

Colorantes y antioxidantes naturales en la industria de alimentos: tecnologías de extracción y materias primas dedicadas

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

Boletín INIA / N° 455



ISSN 0717-4829

Editoras:



Dra. María Teresa Pino

INIA La Platina



Dra. Cristina Vergara H.

INIA La Platina



Liderando la agrociencia para un futuro sostenible

Colorantes y antioxidantes naturales en la industria de alimentos: tecnologías de extracción y materias primas dedicadas

Editoras:

María Teresa Pino.,

Ingeniero Agrónomo. Ph.D.

Cristina Vergara H.,

Ingeniero en Alimentos. Dra.

INIA LA PLATINA

Santiago, Chile, 2022

BOLETÍN INIA Nº 455

ISSN 0717 - 4829



Fondo de
Inversión Estratégica

Publicación desarrollada en el marco del Proyecto PYT-2017-0488 "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile", ejecutado entre los años 2017 al 2021, con apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y el Fondo de Inversión Estratégica (FIE). Ejecutado por INIA y coejecutores.

Editoras:

María Teresa Pino, Ingeniero Agrónomo. Ph.D. INIA La Platina.
Cristina Vergara H., Ingeniero en Alimentos. Dra. INIA La Platina.

Autoras/es:

María Teresa Pino, Ingeniero Agrónomo. Ph.D. INIA La Platina.
Cristina Vergara H., Ingeniero en Alimentos. Dra. INIA La Platina.
Francisco Rossier M. Ingeniero en Alimentos. Ph.D. Transforma Alimentos.
Olga Zamora V., Bioquímica. INIA La Platina.
Ana María Sandoval V., Ingeniero en Alimentos. Mg. INIA Carillanca.
María Pilar Almajano P., Dra. Universidad Politécnica de Cataluña, España.
Diego García D., Dr. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
Carolina Astudillo C., Ingeniero Civil Bioquímico. Dra. Escuela de Alimentos de la PUCV.
María Ximena Quintanilla, Dra. Cs. de los Alimentos. Universidad de La Sabana, Colombia.
Izabela Dutra Alvim, Dra. Instituto de Tecnología de los Alimentos (ITAL), Brasil.
Elizabeth Kerh M., Ingeniero Agrónomo. Mg. INIA Carillanca.
Luis Inostroza F., Ingeniero Agrónomo. Dr. NIA Quilamapu.
Julio Kalazich B., Ingeniero Agrónomo. Ph.D. INIA Remehue (hasta diciembre 2018).
Marco Uribe G., Técnico Agrícola. INIA Remehue.
Manuel Muñoz D., Ingeniero Agrónomo. Dr. INIA Remehue.
Francisco Álvarez M., Ingeniero Agrícola. INIA La Platina.
María Jesús Greve V., Ingeniero Agrónomo. Mg. INIA Carillanca (hasta octubre 2020).
Claudia Mc Leod B., Ingeniero Agropecuario, Mtr. INIA Kampenaike.
Erwin Domínguez D., Botánico, M.Sc. INIA Kampenaike.
Karina Águila M., Ingeniero Ejecución Recursos Naturales. Mtr. INIA Kampenaike.
Ricardo Pérez D., Ingeniero Agrónomo. Dr. INIA La Platina (hasta marzo 2020).

Comité Editor:

Pablo Ulloa F., Ingeniero Alimentos, Dr.
Rafael Melo F., Químico, Dr.
Carolina Salazar P., Biólogo Ambiental, Dra.
María Angélica Salvatierra G., Ingeniero Agrónomo. Ph.D.
Paulina Contardo D., Periodista. Mg.
José Rùth, representante regional de FIA - La Araucanía/Los Ríos

Director Regional INIA La Platina:

Emilio Ruz J., Ingeniero Agrónomo, Ph.D.

Boletín INIA N°455

ISSN 0717 - 4829

Cita bibliográfica correcta:

Pino Q., M.T. y Vergara H., C. (eds.). 2022. Colorantes y Antioxidantes Naturales en la Industria de Alimentos: Tecnologías de Extracción y Materias Primas Dedicadas. Boletín INIA N°455. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. 184pp.

© 2022. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Centro Regional de investigación La Platina Avda. Santa Rosa 11610, La Pintana, Santiago. Teléfono: 56-225779102. Región Metropolitana.

Permitida su reproducción total o parcial citando la fuente y/o autores.

Diseño y diagramación: Jorge Berríos V., Diseñador Gráfico
Cantidad de ejemplares:

Santiago, Chile, 2022.

Agradecimientos

Extendemos nuestro agradecimiento a todos los coejecutores y quienes financiaron el **proyecto PYT-2017-0488** "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile" (2017-2021), POLO COLORANTES PYT-2017-0488 de aquí en adelante. Así como a la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y el Fondo de Inversión Estratégica (FIE).

Al programa de inserción de investigadores en el sector productivo, **PAI 17817020005** (2018-2019), que nos permitió el fortalecimiento del programa de alimentos de INIA a través de la incorporación de capacidades en I+D+i en la formulación de ingredientes, particularmente en la línea de microencapsulación, estabilidad y bioaccesibilidad de ingredientes naturales. Proyecto, que fue reconocido como caso exitoso por la ANID en diciembre del año 2020.

Al proyecto **INIA SUBSECRETARÍA 502666-70** (2018-2020), que nos permitió establecer una línea base de caracterización de berries nativos como materias primas dedicadas y potenciales para ingredientes naturales.

En particular nuestro reconocimiento a los coejecutores [Asociación Gremial de Productores Agrícolas de San Antonio, Asociación Gremial Hortícola de la región de la Araucanía, Cooperativa Campesina Boroa Ltda., Sociedad Comercial DelightBerries Ltda., Agrícola Ceres Ltda. Sociedad de Inversiones Cero Spa (AIMA), Agrícola Vientos del Sur], y empresas como Bayas del Sur, DianaFood, Nativ for Life, Nativ Freeze Dry, healthybakery.cl y a todas aquellas empresas que nos apoyaron en la evaluación de productos, y otros temas asociados.

Otros proyectos ejecutados y en ejecución, que contribuyeron a esta publicación:

INNOVA CHILE 13IDL2-23323 (2013-2017), ejecutado con FMC Colors, que permitió establecer las bases para la obtención de pigmentos naturales competitivos a partir de materia prima nacional (papa y camote) para mejorar la competitividad y sustentabilidad de la industria de colorantes naturales en Chile.

FIA PYT-2018-0289 “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras” (2018-2020), ejecutado con productores de Ñuble y La Casona El Monte, que permitió desarrollar un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras y en particular de alfalfa.

FONDECYT DE INICIACIÓN N°11181019 (2018-2022), que ha permitido avanzar en la encapsulación de extractos específicos de zanahoria morada.

Índice

Prólogo	7
Capítulo 1	
Tendencia de ingredientes naturales y desafíos en Chile	9
<i>Francisco J. Rossier Miranda</i>	
Capítulo 2	
Colorantes naturales en la industria de alimentos	27
<i>Cristina Vergara H., María Teresa Pino, Olga Zamora V., Ana María Sandoval V.</i>	
Capítulo 3	
Principales Antioxidantes de origen vegetal y su efecto en estrés oxidativo	49
<i>María Pilar Almajano, Diego F. García-Díaz</i>	
Capítulo 4	
Técnicas de extracción y estabilización de ingredientes	73
<i>Cristina Vergara H., Carolina Astudillo Castro, Izabela Dutra Alvim, María Ximena Quintanilla</i>	
Capítulo 5	
Principales materias primas utilizadas como colorantes y avances en Chile	99
<i>María Teresa Pino, Elizabeth Kehr M., Luis Inostroza F., Julio Kalazich B., Marco Uribe G., Manuel Muñoz P., Francisco Álvarez M., María Jesús Greve V.</i>	
Capítulo 6	
Potencial de frutales nativos chilenos como fuente de antioxidantes y colorantes	159
<i>María Teresa Pino, Claudia Mc Leod B., Erwin Domínguez D., Olga Zamora V., Francisco Álvarez M., Karina Águila M., Ricardo Pérez Díaz</i>	

Prólogo

Desde hace más de una década, estamos constatando que los consumidores de alimentos a nivel mundial buscan en forma creciente productos naturales y saludables. A medida que existe más información y las redes de comunicación se amplían, las personas están cada vez más conscientes acerca de la importancia de la alimentación en la salud y su propio bienestar. Esto se manifiesta en la preferencia por productos de origen vegetal, inocuos, y libres de ingredientes artificiales o sintéticos.

Así, la industria alimentaria reacciona ante estas nuevas tendencias, y podemos observar que los colorantes y antioxidantes sintéticos van quedando gradualmente de lado en algunos tipos de alimentos, para evitar cuestionamientos que asocian su consumo con problemas de salud.

Nuestro país no puede quedar ajeno a estas preocupaciones, por el contrario, debe exigir que sus productos estén libres de compuestos sintéticos, además de promover la producción de ingredientes y aditivos naturales con materias primas chilenas. Esto es relevante tanto para alimentos de consumo nacional, como para la industria de exportación.

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), en colaboración con el sector privado (productores y agroindustria), y gracias al financiamiento de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), la Corporación de Fomento de la Producción (CORFO) y la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), ha logrado validar la producción y calidad de materias primas específicas, como zanahoria morada, papas de pulpas de color, camote, alfalfa, y berries nativos para la producción de ingredientes naturales, desarrollados por el Programa de Mejoramiento Genético de la Papa y otros propios del INIA.

El uso de colorantes naturales en la industria de alimentos se ve favorecido por un consumidor más informado, empoderado y preocupado por su salud, junto con el avance de las tecnologías de extracción de color desde las materias primas, lo cual ha logrado la obtención de ingredientes más estables y de menor costo.

En Chile las materias primas no son una limitante, pero sí las tecnologías de extracción y concentración del color a nivel industrial, factores que estamos priorizando en el INIA, para contribuir a fortalecer la producción de alimentos en el país.

Este boletín surge en el marco del Proyecto Proyecto PYT-2017-0488 "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile".

Emilio Ruz J.

Director Regional INIA La Platina

Capítulo 1

Tendencia de ingredientes naturales y desafíos en Chile

Francisco J. Rossier Miranda, Ph.D.

Director de Innovación. Transforma Alimentos.

Santiago Chile

francisco.rossier@transformaalimentos.cl

Han pasado 5 años desde que la Fundación para la Innovación Agraria editara el estudio *Estrategia para el Desarrollo de la Industria de Ingredientes Funcionales en Chile* (Rossier y Comas, 2017), documento que permitió sentar las bases para el diseño de dos de las principales iniciativas en esta área asociadas al Programa Estratégico Transforma Alimentos (IFAN, Programa Tecnológico financiado por CORFO, y los Polos Territoriales de Desarrollo Estratégico, financiados por FIA) y de una serie de proyectos de I+D empresarial enfocados en la obtención de ingredientes. Entre otros temas, el estudio planteaba la necesidad de contar con una antena tecnológica/comercial permanente, y proponía la actualización de la información en seis aspectos críticos (tendencias de consumo, categorías de mercado, reclamaciones de salud, aplicaciones, plataforma tecnológica y materias primas nacionales y extranjeras) dado que la experiencia demostraba que el poder predictivo del análisis realizado, producto del dinamismo de la industria de ingredientes, tenía un horizonte de tres años. Si bien este artículo no pretende ser exhaustivo, ofrece una actualización en varios de estos aspectos críticos.

No es una sorpresa que varias de las mega tendencias de la industria de alimentos que se observaban en 2015 se hayan mantenido relativamente constantes en este período: después de todo, los drivers *aumento y envejecimiento de la población*, la asociación *alimento-salud* y el aumento del poder adquisitivo en países emergentes continúan su marcha. Pero también presentes en la balanza aparecen nuevos acentos y especificidades en las tendencias de consumo, empujadas por la hiperconectividad del consumidor, una búsqueda del retorno a la naturalidad y el consumo local, y un foco cada vez mayor y concreto en lograr mejoras sustanciales en ámbitos sostenibilidad y economía circular. Sin duda,

la reciente pandemia covid-19 ha sido un evento tan inesperado como capaz de influir en todas las industrias, no sólo en la búsqueda del fortalecimiento de la inmunidad humana a través de la alimentación, sino también con la modificación de los patrones de consumos que han resultado de la intensificación del e-commerce, y la explosión del trabajo a distancia.

Específicamente respecto al mercado de ingredientes, es necesario recordar que los consumidores desde hace algunos años que buscan, más y más, productos con ingredientes reconocidos como saludables, libres de ingredientes artificiales, químicos y preservantes. Los productos que han cumplido con estas características han sido percibidos como más saludables, aun si esta percepción no tiene un asidero en datos científicos. Esta tendencia llevó a la popularización del término "etiqueta limpia", que resultó ser no muy adecuado, ya que indirectamente implicaría que algunos ingredientes autorizados en la regulación no serían "limpios". Por esto, al menos en países de habla inglesa, el concepto está pasando de ser "clean-label" a ser "clear-label", refiriéndose a una mayor transparencia y autenticidad sobre los ingredientes y productos a lo largo de toda la cadena. Lo cierto es que muchos consumidores confían más en lo que les dice su familia, doctores, pequeños productores, amigos y los compañeros de gimnasio, que en lo que dice el retail (incluyendo el retail online), los canales food-service, las farmacias o los restaurantes. Muchos otros elementos contribuyen a la percepción de "alimentación saludable" y, más allá del saludable consumo de frutas y hortalizas frescas, el cocinar y comer juntos también es parte del momento de consumo en este segmento. La definición que el consumidor tiene sobre "comer bien" ha pasado de significar "comer suficiente", a comer "saludable y nutritivo" a lo que hoy se le agrega "disfrutar, descubrir y conectar" (OliverWyman, 2020). Las diferencias percibidas entre suplementos y alimentos siguen siendo borrosas, con consumidores que se han vuelto más conscientes del uso de suplementos y han aumentado su aceptación y consumo. En el otro extremo, también aumenta el consumo de "comidas sustitutas", con el uso de Jagra (sustancia de sabor dulce extraído de la nuez del coco) en vez de azúcar, o Ghee (elaborada con leche de vacas A2) en reemplazo de la mantequilla (Kumar, 2020).

Se identifican seis cambios en los patrones de consumo en este período: (1) un aumento del foco en salud intestinal y su conexión con las funciones inmunes, (2) los productos "plant-based" se vuelven la corriente principal, (3) hay una nueva perspectiva en el manejo del peso y la salud metabólica, (4) se busca el balance entre el cuidado de uno mismo, el bienestar emocional y la nutrición,

(5) existe un rebrote del interés en nutrición personalizada y (6) hay un cambio en los valores de compra (ADM, 2020).

1.1 Tendencias y Demanda de Alimentos en Salud y Bienestar

Salud y Bienestar es un segmento de productos que va más allá de los alimentos. De hecho, se espera que la industria de Salud y Bienestar alcance US\$1,1 trillones al 2027 (ReportLinker, 2020), con un mercado con un crecimiento potencial de US\$235,94 millones entre 2020 y 2024 (TechNavio, 2020). Sin embargo, tal como ocurre con “clean-label” el concepto de Salud y Bienestar se ha ido actualizando: en inglés el término original “wellness”, en que los consumidores buscaban influir en su salud cardiovascular, el manejo o pérdida de peso, y la salud digestiva, está siendo reemplazado por “well-being”, concepto que ahora incluye otros aspectos como las funciones cerebrales, junto a la salud emocional, los niveles de energía, y los patrones de sueño (OliverWyman, 2020). Se espera que Europa lidere el crecimiento del mercado Salud y Bienestar, con una tasa del 32% anual compuesto (TechNavio, 2020).

En cuanto a alimentos, el mercado Salud y Bienestar se estimó en US\$764 billones en 2020, y previo a la pandemia se proyectaba con un CAGR de 4,8% para el período 2020-2027 (ReportLinker, 2020). Estos productos se dividen a su vez en cinco subsegmentos: alimentos naturalmente saludables, alimentos funcionales, alimentos BFY¹, alimentos orgánicos y productos para intolerancias alimentarias (TechNavio, 2021). Se estima que los alimentos posicionados como naturalmente saludables alcanzaron en 2020 ventas globales por US\$259 billones (Statista, 2020) y se proyecta que este subsegmento mantenga una tasa de crecimiento anual compuesto (CAGR²) igual a 5,3% para alcanzar US\$364 billones al 2027 (ReportLinker, 2020).

Los alimentos funcionales son un subsegmento importante dentro de Salud y Bienestar, ya que explican el 29% de este mercado y se espera crezcan a una tasa anual compuesta de un 4,9% al menos hasta el 2027. Los principales ac-

¹ De las siglas del concepto inglés “Better For You”. Corresponden a productos a los cuales se les han reducido o eliminado las grasas trans, sal, azúcar, o gluten, por nombrar algunos, y al que se le han agregado ingredientes más saludables.

² De las siglas en inglés “Compound Annual Growth Rate”.

tores aquí son Estados Unidos, con un 28,9% del mercado mundial, y China, que se pronostica crecerá por sobre el promedio mundial con un CAGR de 7,5% en el mismo período, alcanzando US\$186 billones a 2027. Para poner esta cifra en contexto, se espera que el mercado europeo en su conjunto alcance US\$186,5 billones al mismo año. Otros países que habían estado liderando el consumo de alimentos funcionales hasta ahora crecerán en este período más lentamente. Por ejemplo, se proyecta para Japón (cuna de los alimentos funcionales con su sistema FOSHU) un crecimiento del 2,7%, para Canadá un 4,4% y para Alemania un 3% (ReportLinker, 2020; Statista, 2020).

Por otra parte, el subsegmento BFY alcanzó un 26,9% de Salud y Bienestar en 2020 y crecerá con un CAGR 3,8%, siendo nuevamente empujado por USA, Canadá, Japón, China y Europa. Estos mercados combinados sumaron US\$155 billones en 2020 para los productos BFY y debiese alcanzar US\$201 billones al 2027. Así mismo el bloque Asia Pacífico alcanzará US\$143 billones al 2027, y Latinoamérica también jugará un rol importante con un crecimiento del 5,2% CAGR (ReportLinker, 2020).

Los alimentos orgánicos también son una fuerza motriz importante para el crecimiento del mercado Salud y Bienestar (TechNavio, 2021) y alcanzaron en 2020 un valor global de US\$105 billones (Statista, 2020). Un 16% de los consumidores busca específicamente este tipo de certificación principalmente por entender que esos productos están libres de pesticidas y otros “químicos” agrícolas. Sin embargo, el término “orgánico” tiene un halo que va más allá y para muchos significa sencillamente “mejor alimento” y les permite también sentirse bien tanto desde un punto de vista nutricional como ético (OliverWyman, 2020).

Con todo, un 77% de los consumidores declaran que tratarán de hacer más intentos para mantenerse saludable en el futuro, por lo que las empresas productoras de alimento que logren combinar las preocupaciones por la salud y precios accesibles son las que lograrán ganar a esos consumidores (ADM, 2020). Esto se vio aumentado el 2020 a causa de la pandemia provocada por el virus SARS-CoV-2 que impacta y seguirá impactando positivamente al segmento Salud y Bienestar, ya que con el virus extendiéndose por el mundo este tipo de productos se convirtieron en la principal prioridad para muchos. Esto ha causado una corrección al crecimiento del segmento Salud y Bienestar indicado más arriba, a un CAGR del 6%, al menos hasta el 2024, cuando alcanzaría unos US\$1.300 (TechNavio, 2021).

Uno de los efectos más claros de la pandemia se observó en todos los productos posicionados como contribuyentes a fortalecer el sistema inmune, donde se popularizaron algunas frutas y hortalizas, bebidas, frutos secos, lácteos y suplementos (Kumar, 2020), y esto debería seguir resonando por al menos los próximos dos años (Mintel, 2021). Algunas empresas han buscado cumplir con las recomendaciones de EFSA para vitaminas A, B6, B12, C, D, folato, cobre, hierro, selenio y/o zinc para poder incluir en el envase el mensaje “contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario”, mientras que muchos otros usan jengibre o cúrcuma, probióticos y proteínas para poder mantenerse en los anaqueles. Otros ingredientes que están atrayendo atención debido a su conexión con la inmunidad son la vitamina D por sí sola, los betaglucanos de levaduras o algas, setas utilizadas en medicina tradicional y extracto de sauco (FoodNavigator, 2021).

Finalmente, en los próximos cinco años debiéramos ser testigos de la evolución del concepto BFY, desde un “better-for-you” a un “better-for-us”, en el que el concepto de salud se extenderá a la salud del planeta y todos quienes lo habitan. Ingredientes sostenibles, productos más sustentables y equidad en la nutrición se unirán mano a mano en pos de la visión de un futuro mejor (Mintel, 2021).

1.2 Mercado de Colorantes Naturales y Antioxidantes

El mercado de colores naturales llegó a ser en 2019 un tercio de todo el mercado de colores para alimentos (Allied Market Research, 2019), a partir de un endurecimiento regulatorio y bastante global sobre los colores sintéticos, que comenzó alrededor de 2015 y generó la tendencia “etiqueta limpia”, donde los primeros productos en reaccionar a reformular con ingredientes naturales fueron las bebidas alcohólicas y no alcohólicas, los productos horneados y los confites. En ese momento el mercado se estimaba en US\$1,3 billones (Grand View Research, 2017), y hoy en día el mercado de colores naturales para alimentos está avaluado en alrededor de US\$7,7 billones (Future Market Insights, 2018; Hexa Research, 2018; Markets and Markets 2019), y se estima que crecerá a una CAGR de alrededor de 5% para el período 2021-2026 (Imarc, 2020a). Con el mercado europeo como principal protagonista y en que Sudamérica sería la región que más rápido crecería debido a su población millennials demandando más alimentos basados en plantas (Markets and Markets, 2019).

Este mercado también tiene sus subconjuntos. Por un lado, está la fuente utilizada para obtener el color: curcumina, carotenoides, antocianinas, carmín, caramelo y clorofila, entre otros (Imarc, 2020a). Sobre estos, están los avances tecnológicos de desarrollo para lograr mayores estabilidades a cambios de pH y de temperatura de estos ingredientes naturales (Grand View Research, 2017), que en un principio no lograban tener las prestaciones de sus contrapartes artificiales. Por otra parte, está su formato de aplicación, muy ligado a su estabilidad, ya que pueden presentarse en forma líquida, en polvo, o en formato gel. Finalmente, también es posible diferenciarlos según su aplicación, que puede ser en alimentos procesados, carnes y cecinas, bebidas o productos horneados, entre otros (Imarc, 2020 a,b).

En cuanto a esta última clasificación, hoy serían los productos cárnicos la principal categoría, en que la industria utiliza carmín, annatto, curcumina y betanina, seguidos por las bebidas y los lácteos (Allied Market Research, 2019), sólo en 2018 se vendieron US\$2,3 billones solo para aplicaciones en bebidas. Se espera que esta categoría se vuelva un tercio del total del mercado de colores naturales hacia el 2029 (Future Market Insights, 2018). Los colores naturales en la categoría horneados y confites tendrían un mayor crecimiento, con un 13,8% CAGR entre 2020 y 2027 (Hexa Research, 2018; Allied Market Research, 2019).

Respecto al origen de estos pigmentos, los carotenoides son los que tienen la participación más grande en términos de venta, con más de un 60% del mercado (Grand View Research, 2017; Hexa Research, 2018). Estos son responsables por los rojos brillantes, amarillos y naranjas, y son también una fuente rica en vitamina A y antioxidantes. Actualmente se producen a partir de plantas, algas, bacterias y hongos (además de sintéticamente). Las mayores fuentes naturales son papaya, piña, zapallo, damasco, zanahoria, naranja y maíz. Los más utilizados como colorantes en alimento son los α - y β -carotenos, la β -cryptoxantina, la luteína, la zeaxantina y el licopeno. Se comercializaron US\$7,3 billones en 2018 en colores naturales basados en carotenoides (Future Market Insights, 2018), y estos ingredientes han crecido a una tasa del 5% anual (2014 y 2019) (Imarc, 2020b). Su importancia se debe a su uso como antioxidantes y la percepción de proteger contra enfermedades crónicas y daño celular, relacionados con el aumento de la prevalencia del cáncer y otros desordenes oftalmológicos derivados de la edad. Además, también encuentran aplicaciones en alimentación animal, suplementos dietarios y cosméticos.

Por otra parte, las antocianinas serían el segmento que más rápido estaría creciendo, con un CAGR del 7,3% proyectado a 2025. Estos pigmentos son preferidos en la industria de alimentos y bebidas debido a su buena estabilidad frente al calor, pH y luz. Pueden soportar tratamientos como la pasteurización y la esterilización UHT, y permiten obtener distintos tonos de rojo, rosado y morado.

Una demanda más difícil de satisfacer en un inicio correspondió a los colores azules (**Figura 1.1**). Las antocianinas son también una de las pocas fuentes naturales de morado y azul estables y solubles en agua (Hexa Research, 2018), pero hoy en día los extractos de espirulina son la principal fuente de color azul natural, aunque también pueden aportar colores rojos y amarillos. El uso del extracto de espirulina como color, se vio ralentizado en un principio por tener un costo de producción mucho mayor comparado con las alternativas sintéticas, y en algunos casos menor estabilidad al exponerse a la luz, pero dado el impulso que recibió desde la FDA cuando aceptó su uso para impartir color azul en dulces, y el desarrollo de nuevas técnicas de extracción debiese resultar en costos menores (Future Market Insights, 2021). La espirulina también tiene fama de ser un alimento funcional por sus propiedades antioxidantes y alto contenido nutricional, lo que se suma a su vibrante color. Se espera que esto, empuje las ventas de extractos de espirulina, alcanzando crecimientos mayores al de los carotenoides (Future Market Insights, 2018, 2021).



Figura 1.1. Soluciones de colores naturales para helados, presentados por CHR Hansen en la IFT 2019 (Fuente: IFT, 2019).

Otro pigmento que ha tomado relevancia es la curcumina, extraído de la cúrcuma o del jengibre, y cuyo mercado global se valoraba en US\$58,4 millones en 2019 con un CAGR esperado para el período 2020-2027 igual a 12,7%. El mercado específico de curcumina para alimentos creció de US\$19,8 millones en 2016 a US\$21,4 millones en 2019, pero debiese alcanzar US\$52 millones al 2029, con un crecimiento de 11,7% (Grand View Research, 2017). Esta demanda está asociada a la relación que el consumidor hace entre su uso, y los beneficios debido a sus propiedades anti-cancer, anti-oxidantes y anti-inflamatorias. También se le atribuye potencial para prevenir enfermedades coronarias y Alzheimer. El mercado norteamericano corresponde al 50,9% del mercado global, mientras que, en Europa, el segundo mercado más grande, su crecimiento debiese alcanzar un CAGR de 14,2% (Grand View Research, 2021).

Finalmente, se espera que el carmín de cochinilla, aun cuando en estricto rigor corresponde a un colorante natural, baje su participación de mercado debido al aumento de la cultura vegana y la aparición de población con alergia a los derivados de insectos (Future Market Insights, 2018).

1.3 Desafíos de la Industria de Ingredientes en Chile

La *Estrategia para el Desarrollo de la Industria de Ingredientes Funcionales en Chile* (Rossier y Comas, 2017) comparaba la exportación de ingredientes naturales con el mercado global siguiendo la evolución de 23 categorías de producto. Si bien las exportaciones de esos ingredientes alcanzaron casi US\$270 millones en 2015, ese valor fue solo de US\$220 millones de 2020 (**Figura 1.2**). De hecho, el valor exportado de estos ingredientes se ha mantenido relativamente constante en el período, manteniéndose aproximadamente en una banda entre los US\$200 millones y los US\$ 250 millones (**Figura 1.3**). Los principales ingredientes exportados se han mantenido sin cambio, en que la lista está encabezada por carragenina, agar-agar, inulina, aceites omega-3 de origen marino, saponinas y extractos de té, los que en su conjunto explican el 90% del valor exportado.

En 2015 se buscaba agregar a esta lista de ingredientes consolidados otros emergentes, por lo que la hoja de ruta de Transforma Alimentos incluyó como uno de sus cinco ejes estratégicos los Ingredientes y Aditivos Naturales. Este eje logró, a través de subsidios de CORFO y FIA, inyectar casi \$16.390 millones de pesos durante el período 2015-2018 para cerrar brechas de conocimiento,

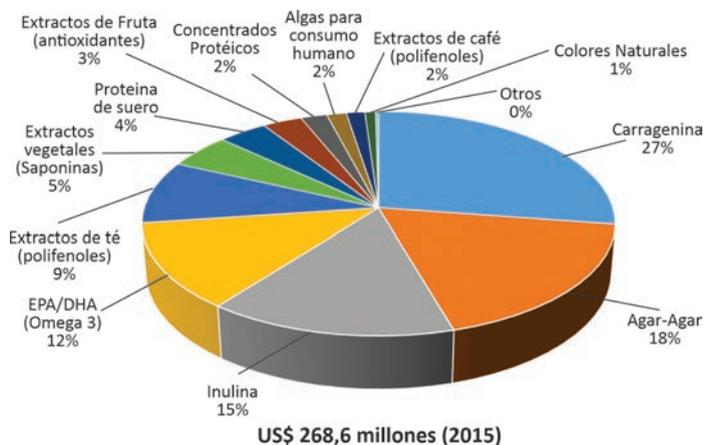


Figura 1.2. Detalle de la composición de exportaciones de ingredientes naturales desde Chile, comparación 2015-2020 (Fuente: elaboración propia en base a datos UNCOMTRADE).

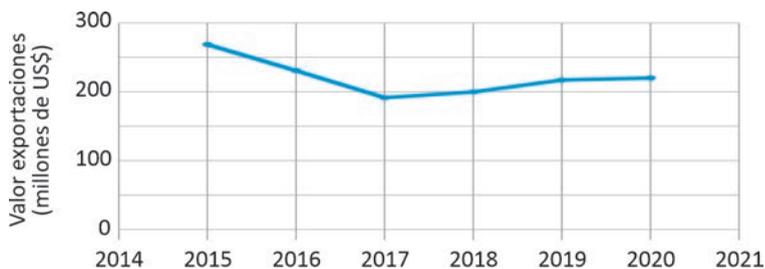


Figura 1.3. Evolución anual de las exportaciones de ingredientes naturales desde Chile, comparación 2015 a 2020 (Fuente: elaboración propia en base a datos UNCOMTRADE).

innovación, tecnología, capital humano y acceso a mercado que aún planteaban desafíos por superar (Transforma Alimentos, 2020). Esto se concretó a través de la formación del Programa Tecnológico IFAN (Ingredientes Funcionales y Aditivos Naturales), los Polos Territoriales de Desarrollo Estratégico, parte de la infraestructura y actividades del Centro Tecnológico CeTA y más de 40 proyectos de I+D+i al interior de empresas. De estos, tanto IFAN como los Polos Territoriales se crearon precisamente para explorar nuevos ingredientes: proteínas de origen vegetal, por ejemplo, legumbres y granos ancestrales, ingredientes derivados de lácteos y productos pecuarios, antioxidantes, colores naturales y preservantes, entre otros. Aun cuando todavía es temprano para medir el impacto de estas iniciativas de largo plazo, los resultados alcanzados hasta ahora permiten prever que se logrará diversificar la paleta de ingredientes exportados, dado el número de productos comerciales que ya se encuentran en el mercado a partir de los nuevos desarrollos realizados. Además, de forma complementaria, Innova CORFO ha entregado subsidios por más de \$3.900 millones de pesos para proyectos de innovación en ingredientes, y ha certificado cerca de \$3.560 millones de pesos para desarrollo de ingredientes con la Ley I+D entre 2015 y 2020 al interior de empresas (Data Innovación, 2021), de los que es también esperable que se alcancen múltiples productos comercializables.

Otra forma de acelerar esta diversificación que ha probado ser efectiva en el pasado, es mediante la atracción de inversión extranjera, como ha sido el caso de la llegada a Chile de Orafiti, Naturex o Sugal, por mencionar algunos. A este respecto es interesante notar como las empresas se han ido concentrando mediante distintas adquisiciones, las que pueden impactar en las decisiones de inversión de las empresas. En nuestro país esto ya ha producido algunos cambios, como en el caso de la adquisición de Chilebotanics por Naturex, y luego de Naturex por Givaudan, de Diana Foods por parte de Symrise, o de FMC por DuPont y de esta por DDW The Color House, por ejemplo. Entre las empresas líderes a nivel global en el área de salud y bienestar se encuentran Arbonne International, The Kraft Heinz Company, Wallgreen Co., Archer Daniels Midland (ADM), Danone, Dean Foods, Mondelez Global, General Mills, GlaxoSmithKline, Kellogg, Nestlé, PepsiCo y Yakult Honsha. En el caso de colores naturales los líderes son ADM, Chr. Hansen, Naturex, Sensient Technologies Corporation, DowDuPont, FMC Corporation, Allied Biotech Corporation, DDW The Colour House, Klasex Inc., Doehler, Roha Dye Chem, Symrise, McCormick & Company, Kalsec, Aakash Chemicals and Dyestuffs, San-Ei Gen, GNT International, LycoRed y Diana Foods (Grand View Research, 2017; Future Market Insights, 2018; Hexa Research, 2018;

Imarc, 2020a). Monitorear los intereses de estas empresas y acercarse activamente con soluciones tecnológicas desarrolladas en Chile, puede contribuir a inclinar su decisión de inversión hacia nuestro país. En general, estas empresas compiten y desarrollan portafolios de productos más amplios, trabajan con un enfoque en I+D+i, buscando mejorar la estabilidad, térmica y a cambios de pH, de estos pigmentos (Hexa Research, 2018).

En cuanto al capital humano, la actualización del catastro de capacidades PIA+S, que incluyó 38 entidades de investigación alcanzando a 224 investigadores, detectó un total de 105 investigadores que declaraban trabajar en el área de ingredientes naturales (46,8%). Esta positiva cifra, sin embargo, está acompañada por un bajo grado de especialización temática: solo 41 investigadores trabajaban exclusivamente en el área de ingredientes, ya fuera en temáticas de funcionalidades sobre la salud (21), funcionalidades técnicas (7) o ambas (13). Otros 21 combinaban el desarrollo de ingredientes con el desarrollo de alimentos (ya fuera funcionales, para grupos especiales, o reducidos en nutrientes críticos). Finalmente, 43 investigadores combinaban sus actividades en el desarrollo de ingredientes con otras disciplinas como calidad e inocuidad, desarrollo de materias primas y desarrollo de envases (Ideaconsultora, 2019). Las iniciativas del portafolio Transforma Alimentos han incorporado ya 54 especialistas (magister y doctores) en esta área, un 34% de la meta fijada a 2025, que se espera contribuya a mejorar tanto la masa crítica de investigadores en este tema, como la especialización de estos (Transforma Alimentos, 2020).

En este periodo, Chile ha estado claramente acelerando su tasa de producción de conocimiento en el área de ingredientes. Por ejemplo, el número de patentes otorgadas a nivel global en el área de ingredientes (incluyendo productos y procesos), ha aumentado anualmente a una tasa constante del 4% durante los últimos diez años. En el mismo período y en la misma categoría, Chile ha aumentado a una razón del 19% anual el número de patentes, aunque de forma menos constante e irregular, representando solo un 0,03% de la producción mundial (**Figura 1.4**). En el área de investigación ocurre algo similar, mientras las publicaciones indexadas a nivel global (dedicadas al área de desarrollo de ingredientes o tecnologías para producirlos), han venido aumentando a una tasa del 10%; las publicaciones nacionales han crecido en un 26% anual (con una aceleración a partir del año 2014), aunque en publicaciones científicas la producción del país alcanza sólo un 0,8% del conocimiento generado mundialmente (**Figura 1.5**).



Figura 1.4. Evolución de la producción de patentes en ingredientes en Chile y a escala global (2011-2020) (Fuente: elaboración propia a partir de datos Scopus).



Figura 1.5. Evolución de la producción de publicaciones científicas indexadas en ingredientes en Chile y a escala global (2011-2020) (Fuente: elaboración propia a partir de datos Scopus).

Uno de los grandes desafíos detectados en 2015 era la dificultad que se preveía podía tener introducir ingredientes producidos a partir de materias primas endémicas de Chile a otros mercados, sobre todo a la luz de lo que la regulación sobre “Novel Food” causaba en Europa. Esto sigue representando un desafío, un ejemplo es el caso de la presentación que se hizo a EFSA, para que aceptara el maqui en jugo concentrado o en polvo como un “Novel Food” en 2019, el cual fue rechazado. Una de las razones del rechazo fue que no pudo demostrarse de forma documental que el maqui se consumía en Chile de forma tradicional, en los formatos polvo y jugo concentrado. Si bien, haber realizado la presentación sobre el fruto fresco podría haber defendido mejor este punto no se realizó por

estimar que no existía el interés de exportar el fruto fresco, cerrando la puerta a que la misma solicitud habilitara todo el resto de los productos de maqui hechos a partir del fruto fresco o deshidratado. El motivo de peso, sin embargo, fue el no haber proveído información cuantitativa sobre la presencia de alcaloides en el maqui en polvo o concentrado, ya que se había detectado la presencia natural de 3-hidroxyindol en maqui fresco, además de otros alcaloides en hojas y otras partes del arbusto, lo que se vuelve relevante al considerar que el consumidor europeo, por desconocimiento, podría consumir los productos de maqui en cantidades superiores a las que históricamente se utilizan en Chile. Futuras presentaciones deberían considerar a las materias primas en sus versiones frescas, y considerando todo el espectro de empresas que podrían beneficiarse de la exportación de sus productos derivados (European Food Safety Authority, 2019).

Las regulaciones presentadas por EFSA son relevantes para Chile, dada la importancia del mercado europeo para nuestras exportaciones. Además, el mercado europeo ha demostrado ser líder a la hora de incorporar nuevos conocimientos y demandas de consumidores dentro de su regulación. Por esto, también es necesario no perder de vista la dificultad que puede presentar el defender una reclamación de alimento funcional frente a esa autoridad. Recordemos que de las 2338 reclamaciones presentadas entre 2009 y 2012 a EFSA, sólo se aprobaron 261 (poco más de un 11%) y aún hay 44 siendo procesadas, algunas de ellas desde el 2009. Un punto de aprendizaje sobre la regulación europea y las reclamaciones de funcionalidad es notar que 6 de estas reclamaciones se concedieron con protección de datos propietarios a beneficio de empresas específicas por 5 años, lo que supone un incentivo desde la regulación a que las compañías realicen I+D en ingredientes y alimentos, y basen sus reclamaciones en ciencia (European Commission, 2021).

La situación regulatoria en Chile no resulta en este tipo de incentivos, y la velocidad a la que la misma es revisada y actualizada se traduce en otra barrera para que los desarrollos nacionales lleguen a mercado durante la ventana de oportunidad que existe para esto. Los ingredientes funcionales no están completamente definidos en la regulación chilena, contrastando con las 261 reclamaciones aprobadas en Europa. En Chile se cuenta solo con 18 asociaciones saludables permitidas consignadas en la Resolución 860 Exenta de 2018 (Ministerio de Salud, 2018) la que, curiosamente, sí incluye el concepto de “alimento funcional”, aunque no lo define en el texto, heredado de la Resolución 764 Exenta de 2009, derogada en 2018 (Ministerio de Salud, 2011). En 2018, se presentó una propuesta de modificación al reglamento sanitario de los alimentos (RSA) para

incluir el concepto de alimentos funcionales en la regulación chilena y establecer un sistema de gestión para ingresar nuevas reclamaciones sobre alimentos funcionales, la que ya pasó su trámite de consulta pública pero aún no ha resultado en la oficialización de dicha modificación (Ministerio de Salud, 2019).

Independiente de las reclamaciones “duras” definidas por organismos como EFSA, las reclamaciones “blandas o “soft-claims”, de corte más comercial que científico, suelen tener tanto o más impacto en el número de desarrollo de ingredientes y productos, y su comercialización. Más allá de la constancia de mega tendencias en alimentos, que tienen un alcance de largo plazo, existen varias nuevas tendencias para los ingredientes funcionales a en cuenta, como la mayor demanda por ingredientes que confieran propiedades “energéticas” a los productos, sin ser sicotrópicos pero que ayuden a los consumidores a mantenerse alerta y enfocados. Al mismo tiempo, ingredientes que ayuden a conciliar el sueño, también aumentarán su presencia en el mercado. La conexión belleza-alimentación también se verá fortalecida, con una mayor inclusión de ingredientes como colágeno conectado al cuidado del cabello, la piel y con beneficios para las articulaciones. El apoyo al sistema inmune, con probióticos, fortalecimiento con vitaminas, jengibre y betaglucanos, es otro tema que aumentará su relevancia, y el concepto de salud digestiva continuará desarrollándose a través de los productos fermentados y los probióticos. Finalmente, en el futuro cercano también verá la llegada al mercado de alimentos diseñados para aprovechar la oportunidad que presenta la demanda por disminuir el estrés, la ansiedad y la privación del sueño, los que se traducirán a la inclusión de cannabis en alimentos envasados como snacks, horneados y lácteos (Euromonitor International, 2020), lo que pondrá a prueba la capacidad de nuestra regulación para mantenerse a la par con la de nuestros mercados de destino.

Conclusión

Si bien Chile ha avanzado en la dirección correcta para aprovechar la oportunidad que plantea la demanda global por ingredientes naturales, no hay que perder de vista que otros países se han embarcado en el intertanto en la misma senda, lo que podría resultar en competencia directa en el futuro cercano. Por ejemplo, en Perú ya se avanza en la construcción de una hoja de ruta tecnológica para la industria de ingredientes alimentarios, y en Bolivia se ha diseñado una hoja de ruta para productos andinos, que incluyen hierbas medicinales y los ingredientes

derivados de estos. Similares avances en la estrategia nacional pueden detectarse en Colombia, Brasil, Argentina y Uruguay, por lo que Chile no puede permitirse desacelerar su esfuerzo por consolidar esta industria de futuro.

Literatura citada

ADM (2020). Emerging Consumer Behaviour Shifts: Six Ways Food & Beverage Innovation is evolving in the face of Covid-19," 08/27/2020. <https://www.adm.com/news/news-releases/emerging-consumer-behavior-shifts-six-ways-food-beverage-innovation-is-evolving-in-the-face-of-covid-19-2>.

Allied Market Research (2019). Food Colors Market by Type (Natural Colors and Artificial Colors), by Applications (Meat Products, Beverages, Dairy, Bakery & Confectionary, Processed Food & Vegetables, Oils & Fats, and Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2020-2027. <https://www.allied-marketresearch.com/food-color-market>.

Euromonitor International (2020). Emerging Trends in Functional Food. 9/3/2020. <https://www.euromonitor.com/article/emerging-trends-in-functional-food>.

European Commission (2021). Health claims for which protection of proprietary data has been granted. https://ec.europa.eu/food/safety/labelling_nutrition/claims/register/public/?event=getListOfPropClaims.

European Food Safety Authority (2019). Technical Report on the notification of powder or juice concentrate of berries of *Aristotelia chilensis* a traditional food from a third country pursuant to Article 14 of Regulation (EU) 2015/2283. 16 September 2019 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1685>.

FoodNavigator (2021). Functional food is no Covid fad. March 2021. <https://www.foodnavigator.com/tag/keyword/Food/Immunity>.

Future Market Insights (2018). Natural Food Colours Market. 2018-08-29 <https://www.futuremarketinsights.com/reports/global-natural-food-colours-market>.

Future Market Insights (2021). Spirulina Extracts Market. 2021-10-25. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/spirulina-extracts-market>.

Grand View Research (2017). Natural Food Colors Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product (Curcumin, Carotenoids, Anthocyanin, Carmine, Chlorophyllin), By Application, By Region, And Segment Forecasts, 2018-2025. Jan 2017 <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/natural-food-colors-market>.

Grand View Research (2021). Curcumin Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Pharmaceutical, Food, Cosmetics), By Region (North America, Europe, Asia Pacific, Central & South America, Middle East & Africa), And Segment Forecasts. 2020-2027". <https://www.grandviewresearch.com/press-release/curcumin-market>.

Hexa Research (2018). Global Natural Food Colors Market Size and Forecast, By Product (Carotenoids, Curcumin, Anthocyanins, Carmine, Copper Chlorophyllin), By Application and Trend Analysis, 2014 - 2025. August 2018. <https://www.hexaresearch.com/research-report/natural-food-colors-market-analysis>.

Ideaconsultora (2019). Actualización del levantamiento de información sobre capacidades de I+D+i en alimentos en Chile. Transforma Alimentos. <https://transformaalimentos.cl/wp-content/uploads/2021/12/2017-IdeaConsultora-PIAS-Catastro.pdf>.

IFT (2019). IFT19: Feed Your Future. <https://www.ift.org/news-and-publications/food-technology-magazine/issues/2019/may/features/ift19-sessions-events-and-activities>.

Imarc (2020a). Natural Food Colors Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2021-2026. <https://www.imarcgroup.com/natural-food-colors-market>.

Imarc (2020b). Carotenoids Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2020-2025. <https://www.imarcgroup.com/carotenoids-market>.

Innova (2021). Data Innovación. CORFO, en: <https://datainnovacion.cl/>. (Último acceso abril 2021).

Kumar (2020). Top Trends in the health and wellness industry in 2020- December 22 <https://yourstory.com/2020/12/top-trends-health-wellness-industry-2020/amp>.

- Markets and Markets (2019). Natural Food Colors & Flavors Market by Color Type (caramel, carotenoids, anthocyanins, curcumin, annatto, and copper chlorophyllin), Flavor Type (natural extracts, aroma chemicals, & essential oils), Application & Region – Global Forecast to 2025. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/natural-colors-flavors-market-676.html>.
- Ministerio de Salud (2011). Resolución 764 Exenta – Aprueba Normas Técnicas sobre directrices nutricionales que indica, para declarar propiedades saludables de los alimentos. http://abchile.cl/uploads/images/Normativa_Nacional_Minsal/MINSAL_RES-764-para-CP.pdf.
- Ministerio de Salud (2018). Resolución 860 Exenta – Aprueba Norma Técnica N° 191 sobre directrices nutricionales para declarar propiedades saludables de los alimentos. <https://www.bcn.cl/leychile/navegar/imprimir?idNorma=1105664&idVersion=2018-01-27>.
- Ministerio de Salud (2019). Decreto 977 –Aprueba Reglamento Sanitario de los Alimentos. http://www.dinta.cl/wp-content/uploads/2019/03/RSA-DECRETO_977_96_act_enero-2019_DINTA_.pdf.
- Mintel (2021). The future of Nutrition, Health and Wellness Market Report 2021. February 2021. <https://store.mintel.com/report/the-future-of-nutrition-health-wellness-market-research-report>.
- OliverWyman (2020). Power of Health and Well-Being in Food Retail. <https://www.oliverwyman.com/our-expertise/insights/2019/jan/boardroom-volume-4/emerging-new-consumerism--aligning-on-value/power-of-health-and-well-being-in-food-retail.html>.
- Reports and Data (2021). Natural Food Colors Market To Reach USD 2.76 Billion By 2027 <https://www.digitaljournal.com/pr/food-colors-market-size-analytical-overview-growth-factors-demand-and-trends-forecast-to-2027>.
- ReportLinker (2020). Global Health and Wellnes Foods Industry. January 2021 <https://www.reportlinker.com/p05956899/Global-Health-and-Wellness-Foods-Industry.html>.
- Rossier Miranda, F., y Comas Saéz, C. (2017). Estrategia para el desarrollo de la industria de ingredientes funcionales en Chile. Santiago. FIA. <https://transformaalimentos.cl/nuevositio/estudios/Estrategia%20Desarrollo%20Industria%20Ingredientes%20Funcionales%20en%20Chile.pdf>.

Statista (2020). Health and wellness food trends in Europe - Statistics and facts. Nov 29, 2021, <https://www.statista.com/topics/3731/health-and-wellness-food-trends-in-europe/>.

TechNavio (2020). Global Health and Wellnes Food Market 2020-2024. <https://www.bloomberg.com/press-releases/2020-03-18/health-and-wellness-food-market-2020-2024-increasing-adoption-of-healthy-eating-habits-to-boost-growth-technavio>.

TechNavio (2021). Health and Wellnes Market by Product and Geography Forecast and Analysis 2021-2025. https://www.technavio.com/talk-to-us?report=IRTNTR40960&type=sample&src=report&utm_source=prnewswire&utm_medium=pressrelease&utm_campaign=T42_rr1_wk37_006&utm_content=IRTNTR40563.

Transforma Alimentos (2020). Informe Semestral Sistema de Seguimiento y Monitoreo 2020-II. Documento interno CORFO.

Capítulo 2

Colorantes naturales en la industria de alimentos

Cristina Vergara H.^{1*}, María Teresa Pino¹, Olga Zamora¹, Ana María Sandoval²

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

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Carillanca. Casilla 929. Vilcún, Chile

*cristina.vergara@inia.cl

El color es muy relevante al momento de escoger un alimento porque condiciona la percepción del consumidor e influye en sus decisiones de compra. En la industria de alimentos, los colorantes son considerados aditivos que contribuyen a realzar y agregar color a los alimentos y permiten corregir las variaciones de color propias de un alimento, entre otros. La tendencia en la alimentación, y en particular del consumidor actual más informado y consciente del impacto de la alimentación en su salud, muestra un alza en la demanda por productos de etiqueta limpia (Clean-Label), naturales, inocuos, libre de ingredientes sintéticos, y con marcada preferencia por aquellos basados en plantas (plant-based). Esto puso sobre el banquillo a los colorantes sintéticos y muchos de estos han sido prohibidos en varios países, surgiendo así el desafío de reemplazarlos con colorantes de origen natural (Vojdani y Vojdani, 2015; Yamjala *et al.*, 2016). Recientemente en Europa, se prohibió formalmente el colorante blanco dióxido de titanio (E171) en todos los alimentos, lo cual regirá a partir de inicios del 2022, porque estudios lo han asociado a daño en el material genético y, consecuentemente podría provocar cáncer (Canu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022). No obstante, las empresas tendrán seis meses para eliminar su uso, y en algunos países como Francia lo prohibieron por completo en 2019 (Futuro360, 2021).

Varios colorantes sintéticos, ya han sido prohibidos por la Food and Drug Administration de EE. UU. (FDA) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), porque existen estudios que han asociado su consumo con problemas de salud (Vodjani y Vodjani, 2015). Entre algunos de ellos, están: Tartracina (E-102) un

colorante de color amarillo o naranja, muy común en la industria alimentaria, que puede estar en cualquier alimento (bebidas, jugos, gelatinas, etc.). Amarillo crepúsculo (E-110) que se fabrica a partir de hidrocarburos aromáticos de petróleo, y ha sido asociado a hiperactividad y reacciones alérgicas. El Azul brillante FCP (E-133), que se usa para colorear de azul helados, dulces y bebidas, otorgando su tono característico a algunos refrescos para deportistas y en bebidas de tipo blue-tropic. Este colorante está cuestionado en numerosos países europeos (aún está prohibido en Suiza). El colorante Allura Red AC o Rojo 40 (E-129) usado en varias bebidas, cárnicos, dulces, medicamentos, se ha asociado a alergias infantiles, hiperactividad, déficit atencional y aumento de síntomas de asma en niños, y algunos autores confirman que provoca daños citológicos (Vodjani y Vodjani, 2015; Yamjala *et al.*, 2016; Noorafshan *et al.*, 2018).

Entre los colorantes naturales más demandados y con una proyección de crecimiento cercana al 5% al 2026, están el carmín, antocianinas, caramelo, annatto, carotenoides, clorofila, espirulina y otros naturales como betalainas, cantaxantina, antraquinonas, curcumina, cúrcuma, y gardenia (**Figura 2.1**).

Aquellos, colorantes con reconocidas características antioxidantes o funcionales son los más demandados como los carotenoides (amarillos-naranjos y rojos), flavonoides y antocianinas (rojos-purpuras-azules), todos asociados a la reducción de la incidencia de enfermedades crónicas y degenerativas, incluyendo enfermedades coronarias, hipertensión, entre otras. Entre los otros, están la clorofila (verde) y espirulina (verde azulado). Sólo el mercado mundial de extractos de clorofila superaría los US\$300 millones para el año 2030 (sólo para el mercado de color y no considerando el mercado de la nutracéutica), con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) proyectada entre el 8 a 9%, siendo la formulación líquida la más demandada (FMI, 2021; Value Market Researchm, 2021).

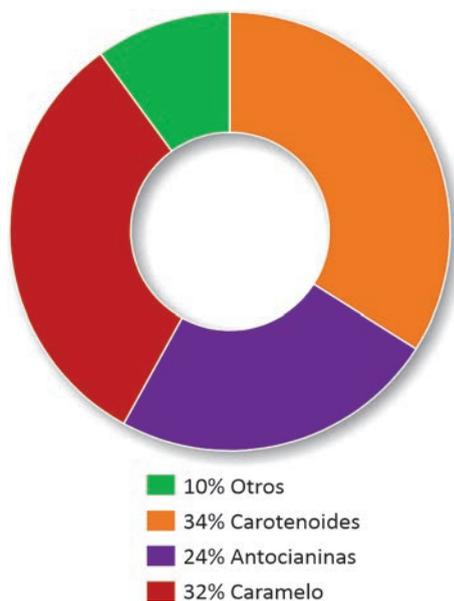


Figura 2.1. Grupo de colorantes naturales más demandados en la industria de alimentos (Fuente: adaptado de Pino y Zamora, 2018)

2.1 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos naturales solubles en agua, que van desde rojos a púrpura-azulados, estas se encuentran en forma natural en las vacuolas celulares en tejidos vegetales de raíces, frutos, flores y otros (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Las fuentes de antocianinas más comunes son la uva tintorera (orujo que se desecha del procesamiento de los vinos), la zanahoria negra, repollo morado y frutos rojos con alto contenido de antocianinas (**Figura 2.2**). Estos últimos tienen la ventaja que son reconocidos como ingredientes alimenticios en vez de aditivos.

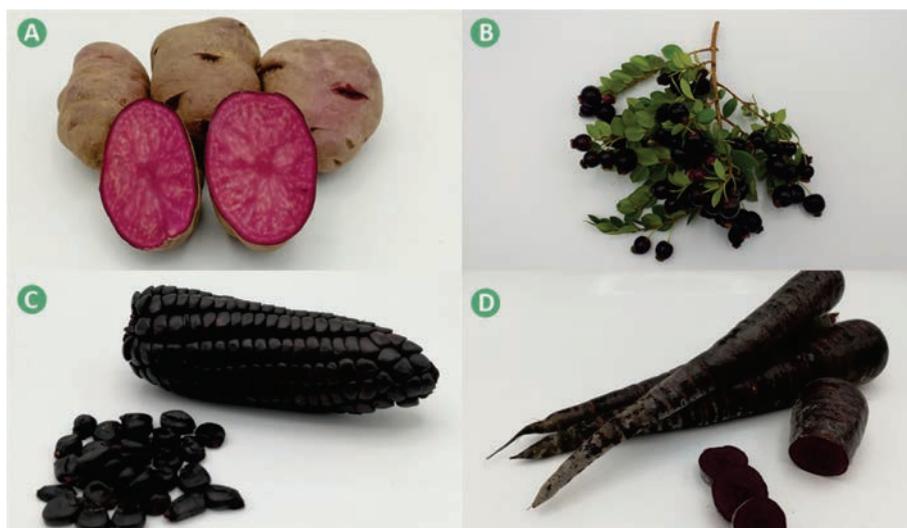


Figura 2.2. Materias primas alta en antocianinas; papa de pulpa de roja INIA (A), arrayan (B), maíz morado (C), y zanahoria negra o morada (D) (Fuente: Laboratorio UMPA¹- INIA).

Tipos de antocianinas y estabilidad

Las antocianinas son los glicósidos de las antocianidinas, los cuales son compuestos polifenólicos que pertenecen a una clase superior de moléculas llamadas flavonoides. Las antocianinas son reconocidos antioxidantes con capacidad de secuestrar radicales libres y lipídicos, mediante la transferencia de átomos de hidrógeno o la donación de electrones (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). La síntesis de las antocianinas inicia a partir de tres moléculas de malonil-CoA y una de p-coumaril-CoA mediante

¹ UMPA, Laboratorio de Materias Primas y Alimentos de INIA La Platina, Santa Rosa 11610, RM.

catalización enzimática hasta la formación de las seis principales antocianinas, estas moléculas pueden encontrarse en forma de aglicona y más comúnmente en forma glicosilada, es decir unidos a moléculas de azúcares (Krishna *et al.*, 2017). Cianidina (50%), delphinidina (12%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), petunidina (7%) y malvidina (7%) son las antocianinas más comunes (**Figura 2.3** y **Tabla 2.1**), con una distribución en flores, frutos y vegetales. La cianidina da una pigmentación púrpura rojizo (magenta) abundante en especies como el sauco, la zanahoria y el maíz morado, y la cianidina-3- glucósido (C3G) es la más predominante. El extracto de Sauco (*Sambucus nigra*), alto en cianidina-3- glucósido (C3G) y cianidina-3-O-sambubiósido, neutralizarían la infección del virus influenza, bloqueando la acción de dos proteínas claves en el proceso de replicación del virus dentro de la célula huésped (Torabian *et al.*, 2019). Delphinidina tiene una característica pigmentación azul-rojizo o violeta en plantas, muy común en maqui. La pelargonidina se diferencia de la mayoría de las antocianinas, otorga una pigmentación anaranjada en flores y



Figura 2.3. Estructura química y colores asociado a los principales grupos de antocianinas detectados en vegetales (Fuente: adaptado de Krishna *et al.*, 2017).

Tabla 2.1. Concentración de antocianinas totales (AT) y tipos de antocianinas predominantes según materias primas más demandadas (Fuente: adaptado de Gonçalves *et al.*, 2021).

Materia Prima	AT (mg C3G/ 100 g peso fresco)	Antocianinas predominantes
Uva tintorera	39-186	Cy, Dp, Mv, Pn, Pt 3-O-glicósidos; Mv, Pn, Pt 3-O-coumarylglicósidos
Repollo morado	109-185	Cy 3-diglicósido-5-glicósido, Cy 3-(sinapoyl)(sinapoyl)-diglicósido-5-glicósido, Cy 3-(r-coumaroyl)-diglicósido-5-glicósido
Zanahoria Negra	22,5	Cy 3-(r-coumaroyl)-diglicósido-5-glicósido
Sauco (Elderberry)	317,5	Cy 3-O-glicósido, Cy 3-O-sambubiósido

Donde, Cianidina (Cy), delphinidina (Dp), peonidina (Pn), petunidina (Pt), malvidina (Mv).

rojo en algunas frutas y bayas. La peonidina se encuentra abundantemente en bayas, uvas y vinos tintos. La malvidina es otra antocianidina o-metilada, tiene un color violeta visible, abunda en flores de color azul y en el arándano azul (Khoo *et al.*, 2017).

Colorantes naturales procedentes de antocianinas aplican bajo la clasificación de colorantes naturales, del tipo E-163. Los extractos de antocianinas tienen múltiples aplicaciones como colorante natural o Food Coloring en diferentes matrices alimentarias tales como jugos, bebidas, yogurt, jaleas y confites (Khandare *et al.*, 2011; Murali *et al.*, 2015).

La estabilidad depende del tipo de antocianina, copigmentos, luz, temperatura, pH, iones metálicos, enzimas, y oxígeno (**Figura 2.4**). La estabilidad de las antocianinas también está influenciada por el anillo B en la estructura de las antocianinas y la presencia de grupos hidroxilo o metoxilo. Una de las propiedades únicas de las antocianinas es que su estructura experimenta una amplia variedad de transformaciones moleculares en función de la concentración de protones, lo cual les permite cambiar de color en función del pH (Khoo *et al.*, 2017; Vergara *et al.*, 2019).

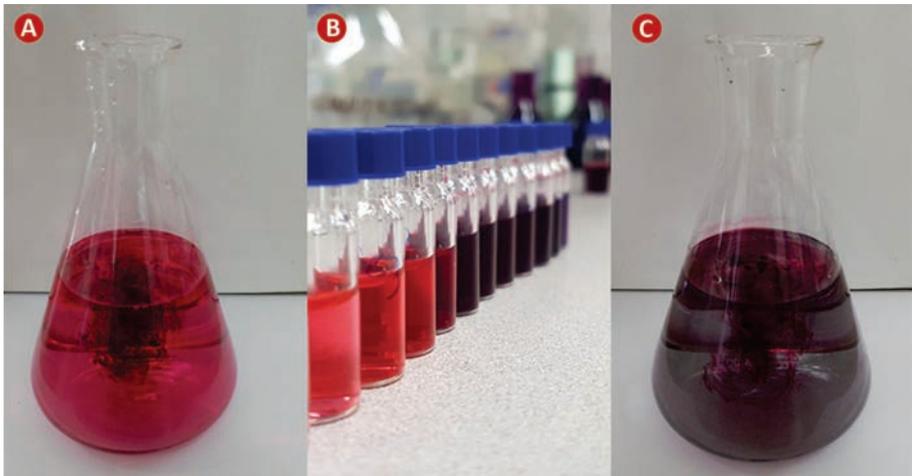


Figura 2.4. Estudios de estabilidad de antocianinas en el Proyecto en: concentrado (65°Brix) de zanahoria morada en agua destilada \sim pH 5,5 (A), extractos de frutos de calafate (B), en agua potable \sim pH 7,0 (C) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Además, las antocianinas son ampliamente investigadas por su rol antioxidante, se les atribuyen efectos benéficos sobre algunas funciones metabólicas debido a su capacidad para reducir los radicales libres, especies reactivas y marcadores

proinflamatorias. Estudios han reportado beneficios en el tratamiento de problemas visuales y cardiovasculares. Por otra parte, su capacidad para inhibir actividades antivirales, y su eficacia contra la carcinogénesis, está aumentando el interés en los sectores farmacéutico y de medicina especializada (Gonçalves *et al.*, 2021).

2.2 Betalainas

Las betalainas son pigmentos solubles en agua, derivan del ácido betalámico (Figura 2.5A), se clasifican principalmente en dos grupos: las betacianinas, responsables del color rojo-púrpura y las betaxantinas, de coloración amarillo-anaranjado. Las betalainas se encuentran presentes en alimentos como la betarraga, las tunas y la pitaya (Herbach *et al.*, 2006; Moßhammer *et al.*, 2006). La Figura 2.6 muestra betarragas, rojas y amarillas, fuentes de betalainas.

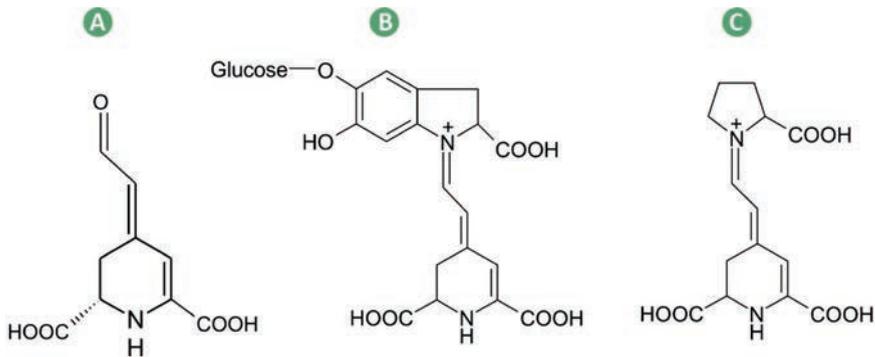


Figura 2.5. Estructura química del ácido betalámico (A), betanina (B) e indicaxantina (C). (Fuente: Herbach *et al.* 2006; Azeredo, 2008).

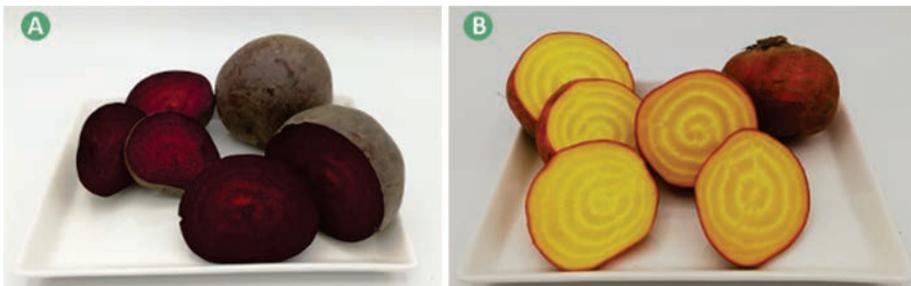


Figura 2.6. Betarragas de colores fuente de betalainas: Betacianinas color rojo-púrpura en betarraga roja (A). Betaxantinas color amarillo-anaranjado en betarraga amarilla (B) (Fuente: laboratorio UMPA - INIA).

En las betacianinas el ácido betalámico está unido al grupo 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), que puede estar o no glicosilado, mientras que en las betaxantinas está unido con aminoácidos o derivados aminos. Ambos pigmentos absorben a distintas longitudes de onda; las betacianinas a 535-550 nm y las betaxantinas a 475-480 nm en el rango de luz visible (Delgado-Vargas *et al.*, 2000; Allegra *et al.*, 2005; Stintzing *et al.*, 2005; Rodríguez-Amaya, 2016). Dentro de las betacianinas el pigmento más conocido es la betanina (**Figura 2.5B**), mientras que en las betaxantinas destaca la indicaxantina (**Figura 2.5C**). Betanina es utilizada como colorante natural en alimentos, extraída desde betarraga (*Beta vulgaris*) que es la fuente comercial de este pigmento (Serris y Biliaderis, 2001). La betanina, también llamada “rojo-betarraga” se encuentra aceptada como colorante en diversas legislaciones y clasificada como aditivo E-162 (EU) y 73.40 (FDA, EEUU). Se utiliza principalmente para reemplazo de colorantes sintéticos rojos.

Estabilidad de las betalaínas

Los principales factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son: temperatura, pH, actividad de agua, luz, presencia o ausencia de oxígeno y de iones metálicos, acción enzimática, siendo la temperatura el factor más influyente en la degradación de las betalaínas (Herbach *et al.*, 2006). La **Figura 2.7** muestra las vías de degradación de betanina, asociando los productos de degradación con el

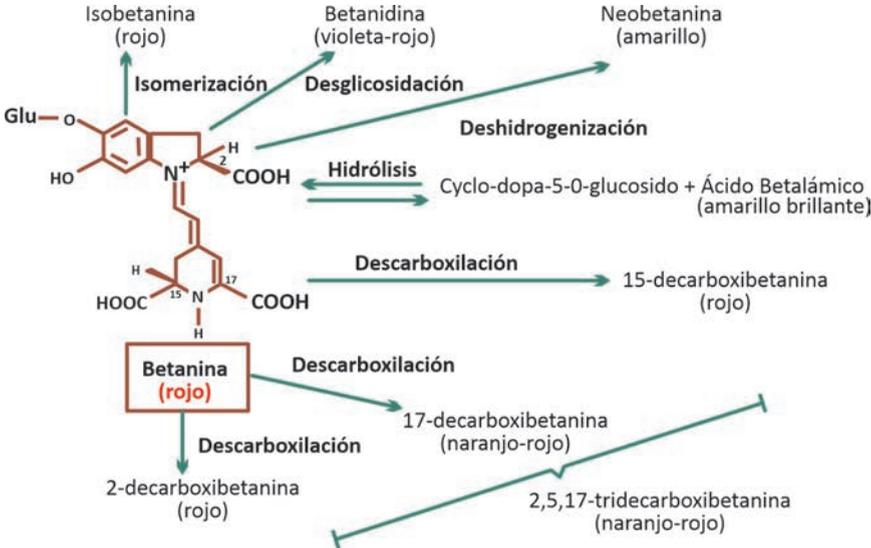


Figura 2.7. Vías de degradación de betanina (Fuente: adaptado de Rodríguez-Amaya, 2019).

color que presentará cada compuesto. Dichas vías de degradación están regidas por reacciones de: isomerización, descarboxilación, desglicosilación, deshidrogenación e hidrólisis.

Beneficios y uso de las betalaínas

La actividad antioxidante de las betalaínas se atribuye al grupo fenólico y grupo amino cíclico presentes en su estructura, por lo cual podrían donar átomos de hidrógeno y/o electrones a radicales libres (Kanner *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2008). En betacianinas la glicosilación reduce la actividad antioxidante. Además, la estructura 6-O-glicosilada produce valores más elevados que la 5-O-glicosilada y la posición C-5 de los grupos hidroxilo en agliconas mejora la actividad antioxidante (Kanner *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2003). La naturaleza catiónica de las betalaínas favorecería la interacción de estas moléculas solubles en agua con moléculas polares de las membranas y de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Kanner *et al.*, 2001). La evidencia científica describe, estudios *in-vitro* e *in-vivo*; que las betacianinas y betaxantinas poseen actividad antioxidante en ambientes biológicos como membranas celulares y células (Tesoriere *et al.*, 2004, 2005, Allegra *et al.*, 2005).

También se han evidenciado acciones antiinflamatorias en células endoteliales y efectos sobre células de líneas tumorales (Gentile *et al.*, 2004; Sreekantah *et al.*, 2007). Gentile *et al.* (2004) observaron que las betalaínas protegen células endoteliales contra la oxidación, lo que indicaría un efecto protector contra procesos inflamatorios conducentes a problemas cardiovasculares posteriores. Pruebas clínicas mostraron que el consumo de tuna influye positivamente en el balance redox del organismo disminuyendo el daño oxidativo de los lípidos, en tanto que la ingesta de jugo de betarraga retarda la oxidación de los lípidos, efectos que se atribuyen a las betalaínas (Moreno *et al.*, 2008). Los estudios *in-vivo* que han sido reportados coinciden en señalar que las betalaínas estarían relacionadas con diversos efectos protectores contra procesos oxidativos en el organismo, contribuyendo, por lo tanto, a prevenir la incidencia de enfermedades no transmisibles. La betanina se utiliza en la industria de alimentos principalmente como un colorante natural para impartir color en alimentos que no son tratados térmicamente, como yogurt, helados, jarabes, etc.

2.3 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales, cuya coloración van desde amarillo a naranjos, rojo-anaranjados a rojos, que se extraen de diversas fuentes vegetales,

son solubles en aceite y precursores de la síntesis de vitamina A. El colorante Amarillo intenso, se extrae de las semillas del Annatto o Achiote (*Bixa orellana*) una planta originaria de la zona tropical Americana y se utiliza para colorear principalmente productos lácteos. Los betacarotenos (Amarillo-anaranjados intensos) se obtiene principalmente de los frutos de la Palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), de la zanahoria naranja y de varios tipos de algas. La Luteína (amarillo intenso) proviene principalmente del Marigold (*Tagetes spp.*) y se utiliza para colorear bebidas, salsas, pasteles, galletas y queso. El Colorante natural oleorresina de pimentón, responsable del color rojo-anaranjado intenso, se obtiene mediante la extracción de capsantina y capsorrubina de frutos de pimiento (*Capsicum annum*) del tipo Paprika y es ampliamente utilizado en alimentos procesados como salchichas, surimi, langostinos, recubrimientos, aperitivos y condimentos (Bora *et al.*, 2019).

Los carotenoides naturales -amarillo anaranjados- son utilizados como colorantes en productos lácteos, margarinas, mantequillas, quesos, quesos fundidos, helados, sopas, salsas, masas de panificación y pastelería, pastas secas o frescas para reforzar el color amarillo también son utilizados en confitería, mermeladas y bebidas. Los extractos de pimientos Paprika (E160c; Capsantina y Capsorubina) son usados como colorantes (rojo y anaranjado oscuro) y saborizantes naturales en la industria de alimentos. Actualmente E160c se usa en una gran variedad de productos, en la industria láctea (quesos, mantequillas, etc.), industria animal (avicultura, piscicultura, ganadería, etc.), industria conservera (vegetales, hidrobiológicos y cárnicos), industria de panificación (pastas, pasteles, galletas, etc.), embutidos, salsas, sopas, mayonesa, condimentos, bebidas, congelados, jarabes, gelatinas, polvos concentrados e industria cosmética (ej. lápices labiales, polvos faciales, otros) (Bora *et al.*, 2019, Naganandhini *et al.*, 2021).

Tipos de pigmentos carotenoides naturales y estabilidad

Los pigmentos carotenoides son bastante estables y en general no se ven afectados por la presencia de ácido ascórbico, calentamiento y/o congelación. El extracto E160c se suministra en formato de oleorresina, es muy poco soluble al agua, se necesita disolver en tensoactivos o mediante la técnica de la encapsulación (**Tabla 2.2**). Específicamente el β -caroteno presente en las zanahorias es muy sensible al calor y la luz, la encapsulación con sacarosa por cocrystalización mejora su estabilidad y aplicación (Kaur *et al.*, 2021).

Tabla 2.2. Clasificación de principales carotenoides como colorantes naturales (amarillo anaranjado a rojo-anaranjado intenso) y principal fuente de origen (Fuente: adaptado de Bora *et al.*, 2019).

Clasificación	Color	Materia Prima (origen)
Betacaroteno (E-160a)	Amarillo-naranjos (luminoso).	Frutos de la Palma Aceitera, zanahoria naranja
Annatto (E-160b)	Naranja intenso	Extractos de las semillas del Annatto o Achiote
Oleoresina (E-160c)	Rojo-anaranjado oscuro	Extractos (capsantina y capsorrubina) del pimiento p�prika
Luteína (E-161b)	Amarillo intenso -anaranjado	Marigold o Tagete

Respecto a la ruta metabólica para la biosíntesis de los distintos carotenoides esta puede seguir caminos distintos, y pasar de la ruta α -caroteno a la ruta del β -caroteno. La ruta de los **α -carotenos** comienza a partir del licopeno y sintetiza carotenoides en el orden, α -caroteno, zeaxantina y luteína (**Figura 2.8**). El contenido de luteína es aproximadamente dos veces mayor que el de β -caroteno en la etapa inmadura. Por el contrario, para la ruta de los β -carotenos comienza desde el licopeno y los carotenoides se sintetizan en el siguiente orden: β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina y neoxantina (Li y Yuan, 2013; Lado *et al.*, 2016). En los *Capsicum* rojos (pimientos tipo Paprika), desde la anteraxantina y la violaxantina se sintetizan capsantina y capsorubina, respectivamente; en la etapa madurez del pimiento, se ha observado que los carotenoides más significativos son capsantina, β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina, y anteraxantina (Lado *et al.*, 2016; Pino, M. T. 2018).

Los carotenoides tienen efecto positivo contra enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer, degeneración macular y cataratas. Sin embargo, los distintos tipos de carotenoides difieren en su funcionalidad; el licopeno se asocia con un riesgo reducido de cáncer de próstata, mientras que a la luteína y la zeaxantina se les atribuye un riesgo menor de degeneración muscular y cataratas (Rodríguez-Amaya, 2021). Estudios *in-vivo*, en capsantina, capsantina-3'-ester y capsantina 3,3'-diéster, mostraron un efecto antitumoral en ratas durante dos etapas de carcinogénesis, sugiriendo que estos extractos de pimiento rojo ten-

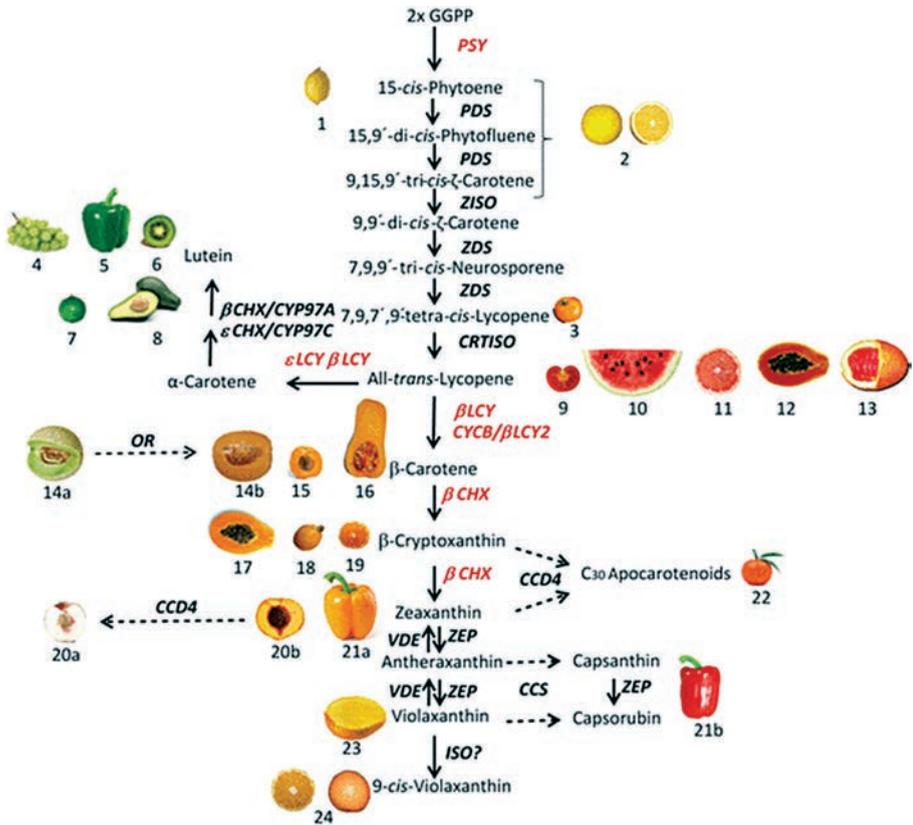


Figura 2.8. Ruta metabólica de la biosíntesis de carotenoides, enzimas y genes asociados a su síntesis (Fuente: Lado *et al.*, 2016).

drían una actividad quimiopreventiva en cáncer (Maoka *et al.*, 2001). Otro estudio, en tres variedades de pimiento del tipo Bell, no sólo identificó por primera vez tres derivados de ácido cinámico y otros cinco componentes flavonoides, también sugirió que estos contribuían a la actividad antioxidante y anticancerígena en general asociados a una mayor concentración de derivados de quercetina (Jeong *et al.*, 2011). Un estudio reciente, mostró que el extracto de paprika, altos en capsorrubina y capsantina, tuvieron un fuerte efecto antioxidante y preventivo de las enfermedades relacionadas con la obesidad, debido a que contribuyeron a regular el alza en el rendimiento de resistencia de los atletas, al reducir el consumo de oxígeno y la frecuencia cardíaca (Maeda *et al.*, 2021)

2.4 Clorofilas

Las clorofilas son pigmentos responsables del color verde en plantas, algas y cianobacterias. Se estima que anualmente el planeta produce cerca de 1,2 billones de toneladas de clorofilas, donde el 25% provienen de las plantas y el 75% proviene principalmente de algas (Humphrey, 2004). Las clorofilas son de color verde porque parte de su molécula que da el color (cromóforo), es responsable de absorber longitudes de onda en la región del espectro visible siendo una en la región azul (400–500 nm) y otra en la región roja (600–700 nm); mientras refleja longitudes de onda en la región verde del espectro (500–600 nm), entregando así su color característico. No obstante, las diferencias en su molécula entrega a la clorofila a un tono verde azulado, y a la clorofila b un tono amarillo verdoso (Gross, 2012).

Las clorofilas son los responsables de la fotosíntesis, se localizan y sintetizan de manera natural en los cloroplastos de la célula, y su estructura principal se basa en átomos de Carbono, Hidrógeno y Nitrógeno. Forman un sistema aromático estable llamado porfirina, que consiste en un anillo tetrapirrólico, unido a un catión de Mg ubicado al centro del anillo (**Figura 2.9**) (Gross, 2012). El anillo está ligado a una ciclopentanona y a un grupo fitol (alcohol de 20 átomos de carbono de naturaleza isoprenoide monoinsaturado) quien otorga el carácter hidrofóbico a la molécula de clorofila.

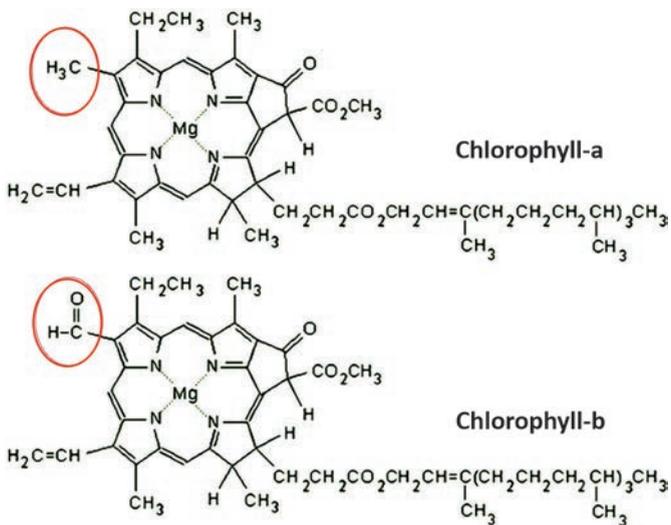


Figura 2.9. Estructura química de clorofila **a** y **b** (Fuente: Phu, 2014).

Tipos de Clorofilas y estabilidad

Existen diversos tipos de clorofilas, en plantas superiores son predominantes las del tipo *a* y *b*, mientras que en algas y bacterias también se pueden encontrar del tipo *c*, *d* y *e*, diferenciándose cada una a nivel molecular. La clorofila-*a* ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$) es la estructura más abundante e importante de la familia, y corresponde aproximadamente al 75% de los pigmentos verdes encontrados en la naturaleza (Streit *et al.*, 2015). Desde el punto de vista de los alimentos, las más importantes son las clorofilas *a* y *b*, usualmente en proporción de 3:1, y se diferencian en que la primera tiene un grupo metilo ($-CH_3$) en el C7, mientras que la segunda posee un grupo aldehído ($-CHO$) en el C3 (**Figura 2.9**) (Gross,2012).

Las clorofilas poseen alta labilidad, son sensibles a la luz, pH, oxígeno, calor, y a enzimas como clorofilasa, que provocan distintos cambios estructurales y en consecuencia, la degradación de la clorofila (Koca *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Özkan y Bilek, 2015). La clorofila *b* es térmicamente más estable que la clorofila *a*, debido a que su grupo aldehído en la molécula, es capaz de captar electrones (Belitz y Grosch, 1987; Canjura *et al.*, 1991), adicionalmente la clorofila *b* es más estable que la clorofila *a*, debido a la presencia de oxígeno de su grupo aldehído en la molécula. La exposición a pH ácido, da lugar a la formación de las feofitinas de color verde oliva-amarillo, debido al reemplazo de su átomo de Mg en la molécula (Zheng *et al.*, 2014).

La **Tabla 2.3** muestra los tipos de clorofilas utilizadas como colorantes de color verde, de acuerdo con las distintas regulaciones (Viera *et al.*, 2019). El sistema internacional de numeración para los aditivos alimentarios clasifica a la clorofila según el Codex Alimentarius como INS 140 (E-140), con índice de color CI 75810. De acuerdo al Art.145 del RSA, se permite usar como sustancias colorantes a: clorofilas (140) liposoluble derivada de la extracción directa por solvente orgánico; clorofilas de cobre (141) considerada la más estable y utilizada en la industria, complejo cúprico de clorofilina (141i) que se forma por saponificación con adición de un alcalí (o base) y cobre, cortando la cadena de fitol, por lo que es hidrosoluble; y el complejo cúprico de clorofilina, sales de sodio y potasio (141ii), todas a excepción de clorofilas de cobre, deben ser utilizadas bajo buenas prácticas de fabricación (BPF).

Tabla 2.3. Clasificación de los colorantes naturales verdes autorizados de acuerdo con diversas regulaciones (Fuente: adaptada de Viera *et al.*, 2019).

País	Clorofila	Clorofilina	Cu-Clorofila	Cu-Clorofilina	Na-Fe-K-Clorofilina
UE	E140i	E140ii	E141i	E141ii	
USA				73.125	
Japón	177	116	266	265	257
India	6				
China			08.153	08.009	
Chile (RSA)	140		141	141i	141ii
Codex Alimentarius	INS 140	INS 140	INS 141i	INS 141ii	

La clorofila se utiliza en diversas aplicaciones en la industria de alimentos: productos de pastelería (galletas dulces), confitería (chicles, golosinas, caramelos), postres, productos lácteos, bebidas, jaleas, helados, sopas, salsas, bocadillos, condimentos y comidas preparadas (IACM, 2021). Además, las clorofilas y sus derivados poseen capacidad antioxidante (Gutiérrez-Rosales *et al.*, 1992), ayudando a retrasar el envejecimiento celular. La clorofila también ayuda a aumentar la calidad y cantidad de glóbulos rojos, y a reducir los riesgos cardiovasculares, debido a su símil con otra molécula de tipo porfirina, la hemoglobina (Solymosi, 2017). Asimismo, se le considera como un auxiliar de la anemia, corrigiendo desequilibrios de hemoglobina en las personas. Se ha reportado que también posee propiedades como anticancerígeno y antimutagénico (Balder *et al.*, 2006; Solymosi, 2017). Otros estudios, sugieren que podrían inhibir diversos tumores y el riesgo de padecer cáncer de hígado, colon, estómago y pulmón con una ingesta apropiada de clorofila, y mutaciones en bacterias. Sus propiedades como detoxificante, ayudan a depurar al organismo de toxinas (ej. aflatoxinas) de manera de bloquearlas y desecharlas a través de la orina, y por su capacidad regenerativa de células, es uno de los compuestos vegetales que provee al organismo de energía y vigor. Productos a base de clorofilas, funcionan como desodorizante, neutraliza problemas de mal aliento (ej. halitosis), al unirse a moléculas que provocan este efecto, disminuyendo olores desagradables en el sudor, orina y fecas (Solymosi, 2017).

Conclusión

Los colorantes naturales más demandados son los amarillos-anaranjados (carotenoides) y rojos a púrpura-azulados (antocianinas) que en conjunto alcanzan cerca del 60% de la demanda total. Los colorantes naturales, además de entregar color, ayudan en la salud del consumidor porque aportan nutrientes y compuestos que neutralizan la oxidación celular y retardan el envejecimiento prematuro, ayudando así en la prevención o avance de las enfermedades propias del siglo XXI. Por otra parte, entre menos procesamiento tenga la elaboración de un colorante natural, este será más valorado como un producto saludable, Clean Labels y reconocido como "Food Coloring" o "Alimento que Colorea". Sin embargo, las técnicas de extracción, estabilidad de estos colorantes naturales en distintas matrices alimentarias y el costo, son desafíos permanentes para industria. En los capítulos siguientes se analizarán materias primas (capítulo 5 y 6), así como técnicas de extracción y estabilización de colorantes naturales (capítulo 4).

Literatura Citada

- Allegra, M., Furtmuller, P., Jantschko, W., Zederbauer, M., Tesoriere, L., Livrea, M. & Obinger, C. (2005). Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 332, 837-844.
- Azeredo, H.M.C. (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 2365-2376.
- Balder, H.F., Vogel, J., Jansen, M.C., Weijenberg, M.P., Van Den Brandt, P.A., Westenbrink, S., Van Der Meer, R., & Goldbohm, R.A. (2006). Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 15, 717-725.
- Belitz, H.D. & Grosch, W. (1987). Vegetables and their products. In: Food Chemistry. Edited by Hadziyev D. Marcell Dekker Inc., New York: 549-584.
- Bora, P., Das, P., Bhattacharyya, R. & Saikia, M. (2019). Biocolour: the natural way of colouring food. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3), 3663-3668.

- Cai, Y., Sun, M. & Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 2288-2294.
- Canjura, FL, Schwartz SJ, & Nunes RV. (1991). Degradation kinetics of chlorophylls and chlorophyllides. *Journal of Food Sciences* 56 1639-1643.
- Canu, I. G., Fraize-Frontier, S., Michel, C., & Charles, S. (2020). Weight of epidemiological evidence for titanium dioxide risk assessment: current state and further needs. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 30(3), 430-435.
- Chen, M. M., Chao, P. Y., Huang, M. Y., Yang, J. H., Yang, Z. W., Lin, K. H., & Yang, C. M. (2012). Chlorophyllase activity in green and non-green tissues of variegated plants. *South African Journal of Botany* 81, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.04.004>.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R. & Paredes-Lopez, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40, 173-289.
- FMI (2021). Chlorophyll Color Market - Analysis, Outlook, Growth, Trends, Forecasts to 2021 - 2031. Future Market Insights, September 2021. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/chlorophyll-color-market> (Último acceso noviembre 2021).
- Futuro360. (2021). Europa prohíbe el colorante blanco E171, usado en la producción de alimentos procesados. Ver link, https://www.futuro360.com/ciencia-en-ti/europa-prohibe-colorante-alimentos-porcesados_20211013/. (Último acceso noviembre 2021).
- Gaur S, Shivhare US, & Ahmed J. (2006). Degradation of chlorophyll during processing of green vegetables: a review. *Stewart Postharvest Review* 2(5), 1-8.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, MA. & D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1028, 481-486.

- Gonçalves, A. C., Nunes, A. R., Falcão, A., Alves, G., & Silva, L. R. (2021). Dietary effects of anthocyanins in human health: A comprehensive review. *Pharmaceuticals* 14(7), 690.
- Gross, J. (2012). Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. Springer Science & Business Media.
- Gutiérrez-Rosales, F., Garrido-Fernández, J., Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B., & Minguez-Mosquera, M. I. (1992). Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 69(9), 866-871.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71, R41-R50.
- Humphrey, A. M. (2004). Chlorophyll as a color and functional ingredient. *Journal of food science* 69(5), C422-C425.
- IACM (2021). International Association of Color Manufacturers. Clorofilas. (Último acceso: diciembre 2021). <https://iacmcolor.org/color-profile/chlorophylls-and-chlorophyllins/>
- Jeong, W. Y., Jin, J. S., Cho, Y. A., Lee, J. H., Park, S., Jeong, S. W., ... & Lee, S. J. (2011). Determination of polyphenols in three *Capsicum annum* L. (*Bell pepper*) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *Journal of separation science* 34(21), 2967-2974.
- Kanner, J., Harel, S. & Granit, R. (2001). Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5178-5185.
- Kaur, P., Elsayed, A., Subramanian, J., & Singh, A. (2021). Encapsulation of carotenoids with sucrose by co-crystallization: Physicochemical properties, characterization and thermal stability of pigments. *LWT* 140, 110810.
- Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing* 89(4), 482-486.

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research* 61 (1), 1361779.
- Koca, N., Karadeniz, F., & Burdurlu, H. S. (2007). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry* 100(2), 609-615.
- Krishna, V., Singh, S., Kaur, C., Dahuja, A., & Praveen, S. (2017). Anthocyanin- a premium functional superfood supplement. Division of Biochemistry, ICAR-Indian Agricultural Research Institute, New Delhi-110012. https://www.iari.res.in/files/Bulletins/Anthocyanin_31012020.pdf.
- Lado, J., Zacarías, L., & Rodrigo, M. J. (2016). Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit development. *Carotenoids in nature* 161-198.
- Li, L., & Yuan, H. (2013). Chromoplast biogenesis and carotenoid accumulation. *Archives of biochemistry and biophysics* 539(2), 102-109.
- Li, Q., Li, J., Duan, M., Liu, L., Fu, Y., McClements, D. J., ... & Chen, X. (2022). Impact of food additive titanium dioxide on the polyphenol content and antioxidant activity of the apple juice. *LWT* 154, 112574.
- Maeda, H., Nishino, A., & Maoka, T. (2021). Biological Activities of Paprika Carotenoids, Capsanthin and Capsorubin. In: Misawa N. (eds) Carotenoids: Biosynthetic and Biofunctional Approaches. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1261. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7360-6_26
- Maoka, T., Mochida, K., Kozuka, M., Ito, Y., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., ... & Nishino, H. (2001). Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer letters* 172(2), 103-109.
- Moreno, D., García, C & Gil, J. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Rev* 7, 261-280.
- Moßhammer, M.R., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2006). Evaluation of different methods for the production of juice concentrates and fruit powders from cactus pear. *Innovative Food Science & Emerging Technology* 7, 275- 287.

- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International* 21(8), 604-612.
- Naganandhini, K., Swathisri, S., & Palaniswamy, R. (2021). Carotenoids: Source of Food Colour and its Benefits. *The Indian Journal of Nutrition and Dietetics* 58(1), 120-137.
- Noorafshan, A. M., Hashemi, S. Karbalay-Doust & Karimi, F. (2018). High dose Allura red, rather than the ADI dose, induces structural and behavioral changes in the medial prefrontal cortex of rats and taurine can protect it. *Acta Histochem* 120(6), 586-594 doi:10.1016/j.acthis.2018.07.004.
- Özkan, G., & Bilek, S. E. (2015). Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. *Food chemistry* 176, 152-157.
- Phu, S. T. P. (2014). Research on the Correlation Between Chlorophyll-a and Organic Matter BOD, COD, Phosphorus, and Total Nitrogen in Stagnant Lake Basins. In *Sustainable Living with Environmental Risks* (pp. 177-191). Springer, Tokyo.
- Pino, M. T. (2018). Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. N°360. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/6647>.
- Pino, M. T. & Zamora, O. N. (2018) Colorantes naturales de alto valor, una tendencia que crece en la industria de alimentos. Revista Tierra Adentro INIA N°110. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/5446>.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science* 7, 20-26.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments-A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food research international* 124, 200-205.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2021). Current knowledge on the health benefits of carotenoids: Focus on the scientific evidence. In *Global Perspectives on Astaxanthin* (pp. 693-717). Academic Press.

- Serris, G.S. & Biliaderis, C.G. (2001). Degradation kinetics of beetroot pigment encapsulated in polymeric matrices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 691–700.
- Solymosi, K., & Mysliwa-Kurdziel, B. (2017). Chlorophylls and their derivatives used in food industry and medicine. *Mini reviews in medicinal chemistry* 17(13), 1194–1222.
- Sreekantah, D.S., Arunasree, M.K., Roy, K.R., Reddy, T.C., Reddy, GV. & Reddanna, P. (2007). Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* 14, 739–746.
- Stintzing, F., Herbach, K., Moßhammer, M., Carle R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh C. & Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 442–451.
- Streit, N., Mérida, L. G. R., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., & Queiroz, M. I. (2015). Producción de pigmentos naturales (clorofila-a) en biorrefinerías agroindustriales. *Revista Ciencia y Tecnología* 8(2), 27–34.
- Tesoriere, L., Butera, D., Pintaudi, A.M., Allegra, M. & Livrea, M.A. (2004). Supplementation with cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit decreases oxidative stress in healthy humans: a comparative study with vitamin C. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 391–395.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. & Livrea, M.A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1266–1270.
- Torabian, G., Valtchev, P., Adil, Q., & Dehghani, F. (2019). Anti-influenza activity of elderberry (*Sambucus nigra*). *Journal of functional foods* 54, 353–360.
- Value Market Research (2021) Global Chlorophyll Extract Market Report. Link <https://www.valuemarketresearch.com/report/chlorophyll-extract-market> (último acceso noviembre 2021).

- Vergara, C., Zamora, O., Álvarez, F., Kehr, E., & Pino, M. T. (2019) Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. Informativo INIA La Platina. N°38. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4909> (Consultado: 13 diciembre 2021).
- Viera, I., Pérez-Gálvez, A., & Roca, M. (2019). Green natural colorants. *Molecules* 24(1), 154.
- Vojdani, A. & Vojdani, C. (2015) Immune reactivity to food coloring. *Altern Ther Health Med*, 21 (Suppl. 1), 52-62.
- Yamjala, K., M.S. Nainar & N.R. (2016) Ramiseti, Methods for analysis of dyes employed in food industry-A review. *Food Chemistry* 192, 813-824. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.085>.
- Zheng, Y., Shi, J., Pan, Z., Cheng, Y., Zhang, Y., & Li, N. (2014). Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless grape. *LWT-Food Science and Technology* 55(2), 595-603.

Capítulo 3

Principales Antioxidantes de origen vegetal y su efecto en estrés oxidativo

María Pilar Almajano^{1*}, Diego F. García-Díaz^{2**}

¹ ETSEIB, Universitat Politècnica de Catalunya, 08028 Barcelona, España

² Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

*m.pilar.almajano@upc.edu, **digarcia@uchile.cl

Los antioxidantes son compuestos reconocidos por su capacidad para inhibir radicales libres y con ello impactar sobre la prevención de Enfermedades Crónicas No Transmisible (ECNT). Diferentes materias primas vegetales presentan una cantidad importante de compuestos antioxidantes de origen natural. El consumo de estas materias primas, sus extractos, jugos o ingredientes derivados se presentan como una alternativa saludable para aumentar el consumo de antioxidantes naturales y ejercer su efecto sobre el estrés oxidativo.

¿Sabías qué?

- Los antioxidantes reducen los radicales libres.
- Evitan la oxidación celular.
- Previenen el envejecimiento prematuro.
- Tienen efectos antiinflamatorios.
- Fortalecen el sistema inmunitario.

ALIMENTOS ALTOS EN ANTIOXIDANTES

ZANAHORIA MORADA
OTROS TOMATE CRANBERRY
PAPA MORADA FRAMBUESA
SAUCO MAQUI

#AlimentosDelFuturo

Fibras
Flavonoides
Antocianinas
Cianidina 3 glucosido
Flavonoides
Antocianinas
Malvidina-3-glucosido
Delfinidina-3- glucosido

INIA busca identificar y desarrollar materias primas altas en antioxidantes.

INIA
Laborando la agropecuaria para un futuro sostenible

www.inia.cl/alimentos

Fuente: INIA, 2021.

3.1 Capacidad antioxidante y mecanismos de acción antioxidante

¿Qué es un antioxidante?

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Químicamente, la oxidación es una semirreacción donde una sustancia pierde electrones y, por lo tanto, se oxida, durante un proceso redox, que puede ocurrir por mecanismos que potencien la producción de radicales (sustancias inestables con electrones desapareados), los cuales desarrollan reacciones en cadena. Dichas reacciones son incontrolables mientras tengan sustrato suficiente para seguir desarrollándose y pueden causar daños a los distintos componentes de las células, especialmente a los de naturaleza lipídica. Los antioxidantes finalizan la reacción al interactuar con los compuestos intermedios e impedir su propagación (Avello y Suwalsky, 2006).

El término antioxidante se comienza a utilizar en procesos industriales, principalmente en el ámbito de la corrosión de metales. En biología, los primeros estudios se focalizan en la prevención de la oxidación de grasas insaturadas (causa de la rancidez) (German, 1999).

Inicialmente la actividad antioxidante podía ser medida simplemente colocando la grasa en un contenedor cerrado con oxígeno y midiendo su tasa de consumo. Sin embargo, el descubrimiento de las vitaminas A, C y E, que actúan como antioxidantes, permitió establecer la importancia de los antioxidantes en la bioquímica de los organismos vivos (Mattill y Wolf, 2005).

Mecanismos de actuación y especies reactivas al oxígeno (ERO)

Uno de los primeros mecanismos estudiados fue el de la vitamina E en la prevención del proceso de *peroxidación lipídica* y llevó a la identificación de antioxidantes como "agentes reductores que previenen reacciones oxidativas", impidiendo la reacción en cadena de las especies reactivas al oxígeno (ERO) y preservando las células del daño oxidativo.

Algunas de las ERO producidas en las células son peróxido de hidrógeno (H₂O₂), radicales libres como el radical superóxido¹ (O₂^{·-}) y el radical hidroxilo (·OH). Este último es muy inestable y reacciona rápidamente con la mayoría de las moléculas biológicas, como aminoácidos y proteínas entre otras (Knight, 1998).

Desde un punto de vista biológico es importante considerar que nuestro metabolismo es oxidativo (respiramos oxígeno) y, por lo tanto, la oxidación es crucial para la vida. Simultáneamente, el oxígeno es muy reactivo, y puede producirse la acumulación de ERO, lo que desembocaría en un desequilibrio. En este sentido, las plantas y los animales mantienen complejos sistemas que les permiten actuar frente a aquellos aspectos (estrés, exceso de luz, calor, radiaciones UV e ionizantes, humo del tabaco, contaminación, entre otros) que pueden causar un desequilibrio oxidativo, conocido como “estrés oxidativo”, estado que puede dañar o matar las células. Este estrés oxidativo se asocia a patogénesis de muchas enfermedades, especialmente las de carácter neurodegenerativo. Por ello, se estudia el uso de antioxidantes como prevención o tratamiento (Avello y Suwalsky, 2006).

Los sistemas que mantienen el equilibrio oxidativo están basados en la generación/presencia de antioxidantes. Una clasificación simple de éstos estaría basada en su **origen: endógenos** (glutación, enzimas -catalasa, superóxido dismutasa peroxidasa-, entre otros) y **exógeno** (básicamente recibidos a través de la dieta (vitamina C, vitamina E, polifenoles, entre otros). En general, pueden tener efectos sinérgicos y también interdependientes. La protección proporcionada por cualquier antioxidante dependerá de su concentración, de su capacidad de interactuar con las ERO y del estado de los antioxidantes con los cuales interactúa (Vertuani *et al.*, 2005).

Otra posible clasificación de los antioxidantes se basa en su solubilidad: **en agua** (hidrofílicos) o **en lípidos** (lipofílicos). En general, dentro del organismo, los antioxidantes solubles en agua actúan en el citoplasma celular y el plasma sanguíneo, mientras que los antioxidantes liposolubles protegen las membranas de la célula frente a la peroxidación de lípidos (Sies, 1997).

¹ El anión de superóxido se produce como subproducto del proceso para generar energía metabólica. En las plantas las ERO también se producen durante la fotosíntesis, bajo condiciones de alta intensidad lumínica. Este efecto se compensa parcialmente por la implicación de carotenoides en la fotoinhibición, lo que implica que estos antioxidantes reaccionan con las formas sobre-reducidas de los centros de reacción fotosintéticos y de tal modo previenen la producción de superóxido (Szabó *et al.*, 2005).

Fuera del organismo, los antioxidantes tienen un importantísimo papel en preservar alimentos (y cosméticos) inhibiendo la rápida oxidación, ya que la oxidación de los alimentos, o enranciamiento, es la segunda causa de deterioro, después de la alteración por microorganismos. La exposición al oxígeno, a la luz y a temperaturas (superiores a la refrigeración, 4°C) son los tres factores principales que causan la oxidación de alimentos. Para evitar y/o retardar dicho proceso, los antioxidantes presentes de forma natural y/o añadidos a los alimentos pueden actuar por varias vías (Avello y Suwalsky, 2006):

- Reaccionar directamente con el oxígeno, eliminándolo de la reacción de propagación en cadena (por ejemplo, el ácido ascórbico).
- Parar la reacción de propagación en cadena, al estabilizar los radicales libres. Ésta es la forma más común y por la que actúan la mayor parte de polifenoles, los tocoferoles (E306), y los principales antioxidantes sintéticos usados en los alimentos (galato de propilo (PG, E310), terbutilhidroquinona (TBHQ), el butilhidroxianisol (BHA, E320) y el butilhidroxitolueno (BHT, E321).
- Secuestrar los metales (mediante la formación de un complejo) que pueden actuar como catalizadores (sustancias capaces de acelerar una reacción química). Este es el mecanismo por el que actúan el ácido cítrico y el EDTA.
- Mediante "atrapamiento" del oxígeno singlete, mecanismo por el que actúan los carotenoides.

¿Cómo medir la actividad antioxidante?

Básicamente se puede medir mediante dos métodos: (1) métodos de captura de radicales libres (CRL) (*radical scavenging* en inglés), (2) métodos en sistemas modelo o alimentos reales.

(1) Métodos de captura de radicales libres (CRL)

Los CRL, en sentido estricto, no miden directamente la actividad antioxidante sino la actividad antirradicalaria. No obstante, habitualmente son los primeros en usarse ya que reúnen varios requisitos: son rápidos, son fiables, suelen presentar algún tipo de correlación con los que determinan específicamente la actividad antioxidante.

Se adecúan perfectamente para la determinación del comportamiento de los antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ) y naturales como los de naturaleza polifenólica. Pueden presentar dos tipos de **mecanismos** (Leopoldini *et al.*, 2011):

- Reacciones en las que **se transfiere un hidrógeno**, en un solo paso; el nombre que reciben es “transferencia de átomo de hidrógeno” (*HAT, Hydrogen Atom Transfer* en inglés). A menor entalpía de enlace entre el O y el H (en los grupos OH de las moléculas antioxidantes), mayor actividad de CRL. La cesión del átomo de hidrógeno al radical se realiza por una ruptura homolítica.
- Reacciones en las que **se transfiere un electrón y un protón**, en dos pasos (existen 3 combinaciones posibles). A menor potencial de ionización mayor actividad CRL. El orden de la secuencia determina 3 subgrupos:

Pérdida de un protón y transferencia de un electrón (en una rápida secuencia). Este tipo de mecanismos se da con facilidad en compuestos de carácter claramente ácido (baja pKa) disueltos en disolventes que favorecen la ionización del grupo fenólico, como por ejemplo metanol.

Transferencia de un electrón (paso determinante de la velocidad de reacción) seguida de la desprotonación del radical catiónico formado. Estos mecanismos se facilitan con radicales fuertemente oxidantes y disolventes no ionizables.

Transferencia de protón y de electrón de manera acoplada. Se forma un compuesto intermedio, enlazado a través de puentes de hidrógeno, entre la molécula y el radical.

Independientemente del mecanismo, el radical “queda neutralizado” (es decir, pierde su carácter radical, deja de tener un electrón desapareado), mientras que la molécula que ha interactuado con él se transforma en radical. Pero este “nuevo radical” es mucho más estable (y por tanto menos reactivo), ya que se permite la deslocalización de la carga en la molécula, al presentar múltiples dobles enlaces alternos, es decir, tiene estructuras resonantes, lo que confiere una mayor estabilidad, a pesar de tener un electrón desapareado. El mecanismo final dependerá tanto del entorno externo (disolvente o fluido) como de la propia molécula antioxidante².

² Por ejemplo, en los sistemas biológicos, como la sangre, el plasma, el mecanismo más probable será por pérdida de un protón y transferencia de un electrón.

En todas las metodologías de CRL se verifica que: se mide por técnicas indirectas, siempre se trabaja con “radicales estables”³, la generación del radical suele ser “*in situ*” al mezclar dos (o más) componentes, la monitorización del avance la reacción se puede hacer a través de la espectrofotometría UV-Visible (en el caso de moléculas que presentan un claro máximo de absorbancia a una determinada longitud de onda, λ) o por la determinación de la fluorescencia⁴, normalmente en todos estos métodos se utiliza el Trolox® (análogo de la vitamina E, soluble en agua) como patrón para hacer una recta de calibrado, lo que permite estandarizar las medidas y compararlas.

Una vez vistos los posibles mecanismos y las características generales a todos ellos, a continuación se presentan los principales ensayos químicos más comunes, que se adaptan a estos mecanismos.

EL DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil-hidratado) es uno de los más característicos. La molécula antioxidante cede inicialmente, un átomo de hidrógeno al DPPH y posteriormente existe la transferencia de un electrón. Es rápido, simple, barato y muy extendido para medir la CRL. Se puede determinar a diferentes tiempos (entre 10 minutos y 90, con intervalos de 10 minutos) lo que también puede proporcionar una idea sobre la cinética de la molécula estudiada⁵. La reacción se suele desarrollar en metanol (disolvente polar que permite y facilita el mecanismo sugerido) y la CRL se mide fácilmente por la disminución de la absorbancia a una $\lambda = 517$ nm, longitud a la que el radical tiene un máximo (en el transcurso de la reacción se pasa de color púrpura a amarillo).

³ Esta conjugación puede resultar, a priori, contradictoria, ya que los radicales reales, por su propia naturaleza, tienden a reaccionar a gran velocidad y su tiempo de vida suele ser de micro o nanosegundos, lo que dificulta enormemente poder realizar una medida de su concentración. Los radicales usados en los métodos químicos, descritos en este apartado, tienen la característica de tener un tiempo de vida suficiente (del orden de minutos o incluso, en algunos casos horas) lo que facilita metodologías que permitan cuantificarlos.

⁴ Si se dispone del aparato adecuado se podría hacer por Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE). Esta técnica puede, incluso, permitir la determinación de radicales de vida muy corta, similar a los radicales reales producidos en el organismo, al establecerse una reacción competitiva de captura del radical producido.

⁵ Es decir, si los resultados obtenidos a los 10 minutos son similares a los obtenidos a los 90 minutos, la cinética se podría definir como rápida, ya que el resultado esperado se alcanza en el primer tiempo estudiado. Sin embargo, si difieren significativamente, se podría decir que la cinética es lenta, ya que la concentración del radical sigue disminuyendo con el paso del tiempo. Es evidente que estas apreciaciones son de carácter semicuantitativo.

El Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), también muy utilizado, implica únicamente la transferencia del átomo de hidrógeno desde la molécula estudiada al radical peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) del dihidrocloruro de 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) (AAPH) generado *in situ*. Se usó inicialmente en compuestos solubles en agua. Cabe destacar que es el más adecuado para medir CRL de muestras biológicas (plasma, tejidos orgánicos, entre otros). El AAPH puede interactuar con la fluoresceína (que presenta fluorescencia con $\lambda_{\text{emisión}}=520\text{ nm}$ y $\lambda_{\text{excitación}}=495\text{ nm}$). La sustancia que CRL protege la fluoresceína retrasando la caída de fluorescencia⁶. Ello permite calcular el área bajo la curva y comparar las diferentes moléculas, incorporando en el valor tanto la CRL como el tiempo de reacción. Este método requiere de una gran precisión instrumental y está muy afectado por el pH (por ello se lleva a cabo con disoluciones tamponadas a pH=7).

El radical 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) también se genera *in situ* como radical catiónico $\text{ABTS}^{\cdot+}$. Normalmente, en la bibliografía, la utilización de este radical describe el método designado con las siglas TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). En sentido estricto este nombre se podría aplicar a cualquiera de los métodos que usan el Trolox como patrón. No obstante, lo admitido por la comunidad científica indica que hablar de TEAC implica el uso del ABTS. Está basado en la transferencia de electrones. El $\text{ABTS}^{\cdot+}$ presenta un máximo de absorción a una $\lambda=734\text{ nm}$. Es adecuado para reacciones lentas, ya que la lectura a tiempo final de la disminución de la absorbancia se suele hacer entre los 5 y los 15 minutos después de iniciada la reacción, siendo 10 minutos el tiempo más utilizado (Shah y Modi, 2015). No es adecuado para muestras biológicas.

Finalmente, estarían los métodos basados en la evaluación de la **capacidad de reducir metales**. Por su naturaleza estaría incluido en los métodos de transferencia de electrones. Entre los posibles, el más utilizado es el **Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)**. Está basado en la reducción del complejo Fe (III) con el ligando tripiridiltriiazina (TPTZ)⁷ al mismo complejo reducido (con Fe (II)) a pH ácidos (aproximadamente 3,6) para facilitar la solubilidad del catión hierro y aumentar el potencial redox de la reacción. El complejo reducido presenta un color azul intenso con un máximo de absorbancia a $\lambda=593\text{ nm}$. A medida que el Fe (III) se va reduciendo

⁶ Es importante calcular la concentración adecuada para que simultáneamente se pueda apreciar una determinada protección (frente al blanco, que incorpora únicamente tampón a pH=7,2) y una caída final de fluorescencia, en el tiempo que dura la prueba (suele ser 90 minutos) a un valor final inferior al 5% del valor inicial.

⁷ Existen otros posibles ligandos (además del TPTZ) que dan lugar a reacciones similares, pero éste es el más extendido.

a Fe (II), aumenta la absorbancia. La principal limitación de este método es el pH en el que se trabaja, ya que se aleja de las condiciones fisiológicas (por tanto, no apto para analizar el plasma); en la misma línea, no es útil para la determinación de antioxidantes de carácter lipofílico; además, no es capaz de detectar reacciones lentas como, por ejemplo, las que implican a los tioles.

(2) Métodos en sistemas modelo o alimentos reales

En estos momentos, nos quedaría responder a la pregunta ¿cómo medir la actividad antioxidante, real? Han de ser medidas relativamente rápidas y con posibilidad de extrapolar a alimentos (e incluso a productos cosméticos) con composición lipídica similar, almacenados a temperatura ambiente. Ello conlleva tomar, de partida, 3 decisiones: **elección del sistema modelo o sistema real con el que se trabajará, metodología de aceleración de la oxidación, monitorización de esta oxidación (es decir, qué métodos se usarán para medir el grado de oxidación)**. En el primer punto, básicamente cabe decir que la oxidación se puede trabajar en un modelo diseñado (aceite o emulsión de aceite en agua o agua en aceite) o en un modelo real, un alimento (diferentes tipos de carnes y pescados, por ejemplo). En el segundo apartado, para acelerar la velocidad de oxidación se suele hacer a través de un incremento de la temperatura y/o de la cantidad de oxígeno disponible. La combinación de ambos efectos suele ser muy efectiva, si bien se ha de tener en cuenta que algunas extrapolaciones no son válidas⁸. Respecto al tercer punto, la determinación del grado de oxidación, se puede realizar por diferentes técnicas (Pokorny *et al.*, 2001):

Técnicas que determinan los compuestos responsables de olores extraños o desagradables:

Por análisis sensorial: determinada por el sabor (involucra el gusto, aroma, sensaciones trigeminales, entre otros) y el olfato (nasal o retronasal) ya que los olores extraños o desagradables son la primera medida que permite decidir si una muestra está oxidada en un grado tal que no la hace apta para el consumo o su uso⁹.

⁸ Por ejemplo, trabajar con temperaturas cercanas a los 100°C no sirve para estudiar la oxidación acelerada a temperaturas de refrigeración, 4°C.

⁹ La comparación entre el comportamiento de una muestra con antioxidante y otra sin antioxidante permitirá evaluar el potencial para extender la vida útil e impedir la formación de olores desagradables.

Por Cromatografía de Gases (CG). Permite analizar y cuantificar los compuestos volátiles causantes del mal olor que suelen representar pequeñas proporciones de los productos de oxidación. No obstante, debido a que tienen umbrales de percepción muy bajos (del orden de ppm), concentraciones muy pequeñas son capaces de causar un olor muy desagradable, por lo que se necesitan aparatos sensibles, los CG. La determinación se puede hacer por inyección directa en el CG (métodos denominados estáticos) o por una captación previa del gas en equilibrio con la muestra en un polímero poroso, con posterior desorción en el CG¹⁰. Este método es muy dependiente de la naturaleza del aceite¹¹.

Cuantificación de compuestos de oxidación primaria y secundaria. El deterioro de la fracción lipídica implica la aparición de compuestos de oxidación primaria y de oxidación secundaria. Su determinación se realiza por métodos químicos.

Básicamente hay dos métodos: la determinación del **valor de peróxido (VP) y la cuantificación de dienos conjugados**. Los hidroperóxidos se descomponen con rapidez, reaccionan entre ellos y son los precursores de la mezcla en compuestos volátiles causantes del mal olor. Su cuantificación (por valoración o por el método de la formación del tiocianato de Fe (III) complejo de color rojo, con un máximo de absorción a $\lambda=500$ nm) es un método muy útil para conocer el deterioro oxidativo de aceites y compuestos con fracción lipídica. Los dobles enlaces alternos (dienes conjugados) se forman a partir de los ácidos grasos poliinsaturados y presentan también un máximo de absorción en el espectro UV a $\lambda=233$ nm. Ambos métodos son viables para la determinación de compuestos de oxidación, siendo el Valor de peróxido el más específico y rápido.

Como métodos para medir la oxidación secundaria destacan el **valor de p-anisidina** y los **compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico**. P-anisidina es un reactivo que reacciona con aldehídos para dar productos que tienen un máximo de absorbancia a 350 nm. El valor de p-anisidina se define como la absorbancia de una solución

¹⁰ Actualmente el desarrollo de los CG con detectores de espectrofotometría de Masas (los más sensibles que existen) permiten analizar con precisión y de manera automática las muestras previamente preparadas en viales perfectamente sellados con una cantidad de muestra conocida exactamente, con una sensibilidad de 0,1 mg, y un proceso de homogeneización que permite que el gas en contacto con la muestra esté en equilibrio con ella.

¹¹ Por ejemplo, los umbrales para el aceite de oliva son 20 veces superiores a los del aceite de pescado, lo que indica que la percepción del olor rancio en el aceite de oliva se dará a concentraciones 20 veces superiores.

resultante de la reacción de este reactivo con un gramo de la parte lipídica del compuesto, disuelto en iso octano, con ácido acético glacial al 0,25%. Cualquier fracción de agua interfiere en la reacción. No diferencia entre volátiles y no volátiles.

Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) es una denominación para el valor obtenido por la reacción de dicho ácido con el malondialdehído (principalmente) lo que proporciona un compuesto de color rojo intenso que tiene un máximo de absorbancia a $\lambda=532-535$ nm. La limitación de este método es su falta de especificidad, ya que el ácido tiobarbitúrico puede también reaccionar con otros productos (proteínas, productos de la reacción de Maillard, o de la degradación de azúcares, entre otros).

FTIR. Una técnica que está en auge es la espectrofotometría infrarroja de la transformada de Fourier (FTIR por sus siglas en inglés). Es rápida y, una vez calibrada con patrones conocidos, permite el análisis simultáneo de hidroperóxidos y otros compuestos de oxidación, con una cuantificación directa en aceites (Johnson *et al.*, 2020).

Pérdida de ácidos grasos poliinsaturados (determinados por sus ésteres metílicos) y **el incremento de peso al calentar la muestra que contiene aceite** (por la incorporación de oxígeno en la formación de hidroperóxidos) pueden usarse para determinar el tiempo de inducción de oxidación de la grasa¹².

3.2 Efecto de los polifenoles en estrés oxidativo y obesidad

Obesidad y estrés oxidativo

Uno de los aspectos que más afectan al diario vivir de cada individuo es el aumento del peso corporal (Powers *et al.*, 2007). A pesar de que el ser humano necesita de la presencia de tejido graso en su organismo, ya que este posee funciones importantes sobre el metabolismo corporal, cuando se desarrolla de forma excesiva se acarrea consecuencias muy perjudiciales para la salud (Bray, 2004). La obesidad es una enfermedad crónica que se ha convertido en uno de los problemas de salud más graves de las sociedades occidentales. Inclusive, ha sido

¹² No son objeto de este capítulo otros métodos como la calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) y los diferentes índices de estabilidad de aceites, que también nos darán una idea de la evaluación de la oxidación.

catalogada como la nueva epidemia del siglo XXI por las enfermedades a las que puede derivar o acompañar (Bray, 2004; Sorensen *et al.*, 2010). El alto consumo de comidas con alto contenido en azúcar y de grasas saturadas en conjunto con un estilo de vida de tipo sedentario, está dictando el importante aumento de la obesidad que se ha venido observado durante los últimos años (WHO, 2018). En Chile, la prevalencia de obesidad ha venido en franco aumento (MINSAL, 2010), y el día de hoy uno de cada tres adultos presentan sobrepeso (MINSAL, 2017).

Esta enfermedad se define como el incremento en el organismo de las reservas energéticas en forma de grasa, el cual es acompañado de un aumento en la masa corporal total, debido al desequilibrio producido en la ecuación que comprende tanto a la ingesta de energía como al gasto energético del organismo (Martinez, 2000). Los factores que influyen en el aumento de la masa corporal son muy diversos, lo que dificulta el desarrollo de tratamientos preventivos o de terapias para revertir su desarrollo. El exceso de energía acumulada repercute directamente en el aumento de número y tamaño de células grasas del tejido adiposo blanco (TAB). Este aumento de la masa de TAB conduce a los diversos problemas clínicos relacionados con la obesidad, debido principalmente al desajuste en la liberación de moléculas secretadas exclusivamente por este tejido (Iyer *et al.*, 2010). Estas moléculas pueden determinar el establecimiento de un estado pro-inflamatorio y pro-oxidante dañino para las células de este tejido (Pi-Sunyer, 2009). Esto implica que el TAB por sí mismo, y los productos lipídicos y proteicos que este secreta, ejercen una función importante tanto en la protección como en la susceptibilidad a desarrollar diversas anomalías. Esta serie de factores peptídicos o proteicos hormonalmente activos que son secretados por el tejido, son las denominadas adipocinas (Fantuzzi, 2005).

Por otra parte, se ha descrito un fenómeno de disfunción mitocondrial, producida la excesiva ingesta de nutrientes, que lleva a la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) en el desarrollo de obesidad (Martinez, 2006). Esta sobre producción se ha relacionado con la presencia de estrés oxidativo. Este fenómeno se relaciona con peroxidación de lípidos, daño al ADN, degradación de proteínas, etc. Se genera cuando especies inestables del oxígeno (radicales libres como hidroperóxidos lipídicos, aniones superóxidos, etc.) son producidos durante la respiración celular en la mitocondria de cada célula, excediendo a la capacidad antioxidante de éstas. Resulta de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y su degradación por los mecanismos celulares naturales de defensa contra estas sustancias (Ames *et al.*, 1993). En este sentido, se ha observado

un elevado estrés oxidativo elevado en pacientes obesos (Vincent y Taylor, 2006) y en modelos animales de sobrepeso (Furukawa *et al.*, 2004). Asimismo, se ha descrito una disminución en las defensas antioxidantes en esta enfermedad (Mutlu-Turkoglu *et al.*, 2003). Esta alteración en el estado oxidativo se ha relacionado con la presencia de inflamación crónica (Dandona *et al.*, 2004; Vincent y Taylor, 2006), especialmente relacionada con un desajuste en la liberación de diversas citoquinas y adipocinas desde el TAB, como TNF- α , IL-6, MCP-1, NO, adiponectina, etc., lo que se han correlacionado con un aumento de la adiposidad corporal (Ferrante, 2007). Además, se ha sugerido que la inflamación resultante podría estar directamente relacionada con una sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (Fantuzzi, 2005; Furukawa *et al.*, 2004). Estas alteraciones promueven el desarrollo de muchas de las secuelas metabólicas negativas de la enfermedad, como la resistencia a la insulina o la arteriosclerosis (Greenberg y Obin, 2006). Estos fenómenos también completan el círculo vicioso en el cual este estado pro-inflamatorio actúa sobre los mismos adipocitos, modificando su señalización e induciendo nuevos procesos pro-adipogénicos con características patogénicas (Galiniér *et al.*, 2006).

Antioxidantes y obesidad: papel de los polifenoles

Los tratamientos basados en antioxidantes emergen como una aproximación muy interesante para contrarrestar las complicaciones derivadas de la acumulación excesiva de grasa, ya que este fenómeno es habitualmente acompañado por estrés oxidativo (Valdecantos *et al.*, 2009). Numerosos compuestos, con reconocidas propiedades antioxidantes han sido testeadas al respecto, como la vitamina C (García-Díaz *et al.*, 2014), vitamina E (Vincent *et al.*, 2006), y ácidos grasos (Yang *et al.*, 2008). Se ha descrito que dichos compuestos son capaces de reducir los niveles de los radicales libres, de regular la síntesis y la liberación de óxido nítrico (NO), de inhibir la producción de ROS e inducir a las enzimas encargadas de la defensa antioxidante del organismo (Flora, 2007). No obstante, en el último tiempo un grupo de compuestos, de los cuales se han descrito las propiedades antioxidantes más importantes en la literatura, han acumulado una enorme cantidad de información. Dichos compuestos son los polifenoles.

Los polifenoles destacan por sus enormes capacidades antioxidantes y antiinflamatorias (Li *et al.*, 2014). Son metabolitos secundarios en las plantas, que se producen como defensa frente a diferentes tipos de estrés, que dependiendo de su estructura química básica, se consideran cuatro clases principales: ácidos

fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Manach *et al.*, 2004). El conocimiento y las implicaciones de estos compuestos en la salud humana se han documentado ampliamente y se han atribuido a diversos efectos positivos para la salud (Pandey y Rizvi, 2009).

Específicamente, las primeras evidencias sobre los efectos beneficiosos de los polifenoles sobre la obesidad se publicaron en 1999 (Dulloo *et al.*, 1999). Este estudio reportó, que el consumo de un extracto rico en catequinas aumenta el gasto energético de 24 horas, y la oxidación de grasas en 10 voluntarios sanos. A partir de ese momento, el interés aumentó significativamente y se han realizado innumerables investigaciones. Por ejemplo, las procianidinas de la uva se han relacionado con prevención de la obesidad en hámsteres alimentados con dieta alta en grasas, mejorando el perfil secretor de adipocinas del tejido adiposo y atenuando el estrés oxidativo (Decorde *et al.*, 2009). Además, extractos de manzana y canela se destacan, ricos en polifenoles, han probado efectos importantes sobre obesidad en ratas (Boque *et al.*, 2013). Adicionalmente, se han reportado efectos de polifenoles aislados, por ejemplo, para resveratrol y quercetina, que en combinación presentaron efectos sinérgicos sobre la reducción de depósitos de grasa en ratas (Arias *et al.*, 2016). En humanos, un estudio de casos y controles describió que un extracto rico en polifenoles redujo el peso corporal, el IMC, la grasa corporal y la relación cintura-cadera en sujetos con sobrepeso (Chang *et al.*, 2014). Además, se ha observado que los polifenoles del jugo de naranja reducen el peso corporal, junto con la actividad antioxidante y mejoran la presión arterial, en pacientes obesos (Rangel-Huerta *et al.*, 2015).

Los mecanismos por los que se inducen los efectos antiobesidad de distintas matrices alimentarias o de compuestos aislados, se han relacionado previamente con: oxidación y/o acumulación de grasa en tejido adiposo y/o hígado (Yoshikawa *et al.*, 2002; Fukuchi *et al.*, 2008; Ejaz *et al.*, 2009; Gwon *et al.*, 2012), mediante la modificación de la expresión de genes dedicados a estos mecanismos (Yang *et al.*, 2010; Murase *et al.*, 2011; Boque *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2015), y también con características inhibitorias sobre proteínas encargadas en la absorción de grasas (de la Garza *et al.*, 2011). Todas estas evidencias podrían apoyar los efectos de los polifenoles sobre la modulación de la ingesta y el gasto energético.

Con respecto a las consecuencias del desequilibrio energético y la acumulación de TAB, la inflamación es un puente clave para el desarrollo de comorbilidades. En este sentido, los compuestos polifenólicos también han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antiinflamatorias. Por

ejemplo, se han observado efectos inhibidores de las antocianinas derivadas de la vid y sobre la secreción de moléculas pro-inflamatorias en (Wang y Mazza, 2002a, 2002b) en macrófagos de ratón. Además, extractos de procianidinas derivados de semillas de uva redujeron la expresión de moléculas inflamatorias en células de grasa y del sistema inmune humanas (Chacón *et al.*, 2009). Hechos similares fueron observados en ratas (Terra *et al.*, 2009). Evidencia similar, en células de ratón, fue descrito para el resveratrol (Kang *et al.*, 2010). Se ha descrito que otros extractos polifenólicos de plantas presentan propiedades antidiabéticas mediante la activación de la captación de glucosa (Christensen *et al.*, 2009). Específicamente, la suplementación con extractos de arándanos ejerció efectos sensibilizantes a la insulina en animales alimentados con dieta alta en grasas. Esta suplementación contribuyó a una regulación negativa de la expresión de genes proinflamatorios en el tejido adiposo (DeFuria *et al.*, 2009).

Matrices locales de polifenoles y su relación con obesidad

En Chile, se han identificado diversas fuentes vegetales que contienen altas concentraciones de compuestos polifenólicos. De hecho, se han descrito varias con potencial en el tratamiento contra obesidad (García-Díaz *et al.*, 2019). Entre estas destaca *Berberis microphylla* (Calafate), que pertenece a la familia Berberidaceae y es originaria de la zona patagónica de Chile y Argentina (Fredes, 2009). Es un arbusto o árbol pequeño de hoja perenne o semi-perenne, que crece en una amplia gama de condiciones ambientales. Los frutos de calafate son bayas de color púrpura oscuro, negro o azulado (Ruiz *et al.*, 2010). El alto contenido de compuestos polifenólicos en Calafate se ha correlacionado con una alta capacidad antioxidante (Ruiz *et al.*, 2010). Su valor de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) se ha determinado en 72,425 μmol equivalentes de Trolox (TE) / 100 g peso fresco, posicionándola como la fruta con mayor capacidad antioxidante en Sudamérica (Speisky *et al.*, 2012).

Desde hace un buen tiempo se ha estudiado el potencial del extracto de Calafate como tratamiento para las características relacionadas con la obesidad, especialmente ligadas con inflamación y estrés oxidativo (García-Díaz *et al.*, 2019). Se ha observado que el tratamiento con extractos crudos de Calafate inhibe la inflamación ligada a la interacción patógena entre adipocitos y macrófagos. Se ha observado que dicho extracto redujo la expresión de iNOS y de TNF- α , e indujo

el aumento de IL-10 cuando se aplicó a un cocultivo de adipocitos/macrófagos (Reyes-Farias *et al.*, 2015). Además, se informó que este extracto inhibe la respuesta inflamatoria y estimula la captación de glucosa en adipocitos de ratón (Reyes-Farias *et al.*, 2016). Recientemente se observó que inhibe la inflamación y la apoptosis en macrófagos humanos activados, suprime la inflamación y la muerte de dichas células, y además mejora la respuesta antioxidante de los adipocitos humanos activados (Ovalle-Marin *et al.*, 2020). Además, este enfoque *in vitro* se confirmó *in vivo* en un estudio reciente (Soto-Covasich *et al.*, 2020). Este estudio confirmó las características anti-inflamatorias (expresión atenuada de TNF- α y F4/80 en TAB) y sensibilizantes a la insulina de la administración de un extracto de calafate puro con polifenoles en ratones obesos.

Conclusión

La obesidad es considerada epidemia. Esto es principalmente debido a que es un puente de enfermedades que atentan directamente contra la vida de las personas (diabetes, enfermedad cardiovascular, cáncer). La relación entre obesidad y dichas patologías surge por la presencia de procesos pro-oxidantes y pro-inflamatorios. En este sentido, la búsqueda de tratamientos complementarios antioxidantes y/o anti-inflamatorios, son de interés. Los polifenoles son compuestos de origen vegetal, a los que se han atribuido importantes propiedades antioxidantes. Es así que numerosas investigaciones han relacionado su tratamiento y/o consumo con evidencias anti-obesidad y anti-comorbilidades de la obesidad, en distintos modelos experimentales. Esto demuestra el tremendo potencial de dichos compuestos en este aspecto, y de matrices ricas en estos compuestos, y marca la necesidad de más investigación, y el perfilamiento de soluciones concretas basadas en esta evidencia, para el diseño de soluciones complementarias. Especialmente evaluando materias primas propias y cultivadas en el país.

Literatura Citada

Antioxidantes

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)* 494, 161-172. <https://doi.org/10.4067/s0718-04622006000200010>.

- German, J. B. (1999). Food processing and lipid oxidation. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 459, 23-50. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4853-9_3.
- Johnson, J., Mani, J., Ashwath, N., & Naiker, M. (2020). Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 233, 118228. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118228>.
- Knight, J. A. (1998). Free radicals: Their history and current status in aging and disease. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 28(6), 331-346.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry* 125(2), 288-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>.
- Mattill, H. A., & Wolf, G. (2005). The Discovery of the Antioxidant Function of Vitamin E. *The Journal of Nutrition* 135(September 2004), 363-366.
- Pokorny, Jan, E., & Yanishlieva, Nedyalka, ed. Gordon, Michael, E. (2001). Antioxidants in food. Practical applications. In *War Tourism*. Published by Woodhead Publishing Limited, Abington Hall,. <https://doi.org/10.7591/cornell/9781501715877.003.0009>.
- Shah, P. & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int J Res Appl Sci Eng Technol* 3(6), 636-41.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82(2), 291-295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.
- Szabó, I., Bergantino, E., & Giacometti, G. M. (2005). Light and oxygenic photosynthesis: Energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. *EMBO Reports* 6(7), 629-634. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400460>.
- Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2005). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design* 10(14), 1677-1694. <https://doi.org/10.2174/1381612043384655>.

Polifenoles en estrés oxidativo y obesidad

- Ali, F., Ismail, A., Esa, N. M., & Pei, C. P. (2015). Transcriptomics expression analysis to unveil the molecular mechanisms underlying the cocoa polyphenol treatment in diet-induced obesity rats. *Genomics* 105(1), 23-30. doi:10.1016/j.ygeno.2014.11.002.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90(17), 7915-7922. doi:10.1073/pnas.90.17.7915.
- Arias, N., Macarulla, M. T., Aguirre, L., Milton, I., & Portillo, M. P. (2016). The combination of resveratrol and quercetin enhances the individual effects of these molecules on triacylglycerol metabolism in white adipose tissue. *Eur J Nutr* 55(1), 341-348. doi:10.1007/s00394-015-0854-9.
- Boque, N., de la Iglesia, R., de la Garza, A. L., Milagro, F. I., Olivares, M., Banuelos, O., . . . Campion, J. (2013). Prevention of diet-induced obesity by apple polyphenols in Wistar rats through regulation of adipocyte gene expression and DNA methylation patterns. *Mol Nutr Food Res* 57(8), 1473-1478. doi:10.1002/mnfr.201200686.
- Bray, G. A. (2004). Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 89(6), 2583-2589. doi:10.1210/jc.2004-0535.
- Chacon, M. R., Ceperuelo-Mallafre, V., Maymo-Masip, E., Mateo-Sanz, J. M., Arola, L., Guitierrez, C., . . . Vendrell, J. (2009). Grape-seed procyanidins modulate inflammation on human differentiated adipocytes *in vitro*. *Cytokine* 47(2), 137-142. doi:10.1016/j.cyto.2009.06.001.
- Chang, H. C., Peng, C. H., Yeh, D. M., Kao, E. S., & Wang, C. J. (2014). Hibiscus sabdariffa extract inhibits obesity and fat accumulation, and improves liver steatosis in humans. *Food Funct* 5(4), 734-739. doi:10.1039/c3fo60495k.
- Christensen, K. B., Minet, A., Svenstrup, H., Grevsen, K., Zhang, H., Schrader, E., . . . Christensen, L. P. (2009). Identification of plant extracts with potential antidiabetic properties: effect on human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), adipocyte differentiation and insulin-stimulated glucose uptake. *Phytother Res* 23(9), 1316-1325. doi:10.1002/ptr.2782.

- Dandona, P., Aljada, A., & Bandyopadhyay, A. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 25(1), 4-7. doi:10.1016/j.it.2003.10.013.
- de la Garza, A. L., Milagro, F. I., Boque, N., Campion, J., & Martinez, J. A. (2011). Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Med* 77(8), 773-785. doi:10.1055/s-0030-1270924.
- Decorde, K., Teissedre, P. L., Sutra, T., Ventura, E., Cristol, J. P., & Rouanet, J. M. (2009). Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamsters by improving adipokine imbalance and oxidative stress markers. *Mol Nutr Food Res* 53(5), 659-666. doi:10.1002/mnfr.200800165.
- DeFuria, J., Bennett, G., Strissel, K. J., Perfield, J. W., 2nd, Milbury, P. E., Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2009). Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr* 139(8), 1510-1516. doi:10.3945/jn.109.105155.
- Dulloo, A. G., Duret, C., Rohrer, D., Girardier, L., Mensi, N., Fathi, M., . . . Vandermander, J. (1999). Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 70(6), 1040-1045. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10584049>.
- Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., & Meydani, M. (2009). Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr* 139(5), 919-925.
- Fantuzzi, G. (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115(5), 911-919; quiz 920. doi:10.1016/j.jaci.2005.02.023.
- Ferrante, A. W., Jr. (2007). Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *J Intern Med* 262(4), 408-414. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01852x.
- Flora, S. J. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 53(1), 1-2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17535753>.

- Fredes, C. (2009). Antioxidants in Chilean native berries. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8(6), 469-478. doi:<https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/008-006.pdf>.
- Fukuchi, Y., Hiramitsu, M., Okada, M., Hayashi, S., Nabeno, Y., Osawa, T., & Naito, M. (2008). Lemon Polyphenols Suppress Diet-induced Obesity by Up-Regulation of mRNA Levels of the Enzymes Involved in beta-Oxidation in Mouse White Adipose Tissue. *J Clin Biochem Nutr* 43(3), 201-209. doi:10.3164/jcbn.2008066.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., . . . Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114(12), 1752-1761. doi:10.1172/JCI21625.
- Galinier, A., Carriere, A., Fernandez, Y., Carpenne, C., Andre, M., Caspar-Bauguil, S., . . . Casteilla, L. (2006). Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem* 281(18), 12682-12687. doi:10.1074/jbc.M506949200.
- Garcia-Diaz, D. F., Lopez-Legarrea, P., Quintero, P., & Martinez, J. A. (2014). Vitamin C in the treatment and/or prevention of obesity. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 60(6), 367-379. doi:10.3177/jnsv.60.367.
- Garcia-Diaz, D. F., Jimenez, P., Reyes-Farias, M., Soto-Covasich, J., & Costa, A. G. V. (2019). A Review of the Potential of Chilean Native Berries in the Treatment of Obesity and its Related Features. *Plant Foods for Human Nutrition* 74(3), 277-286.
- Greenberg, A. S., & Obin, M. S. (2006). Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr* 83(2), 461S-465S. doi:10.1093/ajcn/83.2.461S.
- Gwon, S. Y., Ahn, J. Y., Kim, T. W., & Ha, T. Y. (2012). Zanthoxylum piperitum DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 58(6), 393-401. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23419397>.
- Iyer, A., Fairlie, D. P., Prins, J. B., Hammock, B. D., & Brown, L. (2010). Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat Rev Endocrinol* 6(2), 71-82. doi:10.1038/nrendo.2009.264.

- Kang, L., Heng, W., Yuan, A., Baolin, L., & Fang, H. (2010). Resveratrol modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity in adipocytes: Relative to inhibition of inflammatory responses. *Biochimie* 92(7), 789-796. doi:10.1016/j.biochi.2010.02.024.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* 6(12), 6020-6047. doi:10.3390/nu6126020.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79(5), 727-747. doi:10.1093/ajcn/79.5.727.
- Martínez, J. A. (2000). Body-weight regulation: causes of obesity. *Proc Nutr Soc* 59(3), 337-345. doi:10.1017/s0029665100000380.
- Martínez, J. A. (2006). Mitochondrial oxidative stress and inflammation: an slalom to obesity and insulin resistance. *J Physiol Biochem* 62(4), 303-306. doi:10.1007/BF03165759.
- MINSAL (2010). Chile Health National Survey 2009-2010. <https://www.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>.
- MINSAL (2017). Chile Health National Survey 2016-2017. https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2017/11/ENS-2016-17_PRIMEROS-RESULTADOS.pdf.
- Murase, T., Misawa, K., Minegishi, Y., Aoki, M., Ominami, H., Suzuki, Y., . . . Hase, T. (2011). Coffee polyphenols suppress diet-induced body fat accumulation by downregulating SREBP-1c and related molecules in C57BL/6J mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300(1), E122-133. doi:10.1152/ajpendo.00441.2010.
- Mutlu-Turkoglu, U., Oztezcan, S., Telci, A., Orhan, Y., Aykac-Toker, G., Sivas, A., & Uysal, M. (2003). An increase in lipoprotein oxidation and endogenous lipid peroxides in serum of obese women. *Clin Exp Med* 2(4), 171-174. doi:10.1007/s102380300002.

- Ovalle-Marin, A., Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Parra-Ruiz, C., Quitral, V., Jimenez, P., . . . Garcia-Diaz, D. F. (2020). Maqui, Calafate, and Blueberry fruits extracts treatments suppress the pathogenic interaction amongst human adipocytes and macrophages. *Journal of Berry Research* 10(3), 531-545.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev* 2(5), 270-278. doi:10.4161/oxim.2.5.9498.
- Pi-Sunyer, X. (2009). The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 121(6), 21-33. doi:10.3810/pgm.2009.11.2074.
- Powers, K. A., Rehrig, S. T., & Jones, D. B. (2007). Financial impact of obesity and bariatric surgery. *Med Clin North Am* 91(3), 321-338, ix. doi:10.1016/j.mcna.2007.01.001.
- Rangel-Huerta, O. D., Aguilera, C. M., Martin, M. V., Soto, M. J., Rico, M. C., Vallejo, F., . . . Mesa, M. D. (2015). Normal or High Polyphenol Concentration in Orange Juice Affects Antioxidant Activity, Blood Pressure, and Body Weight in *Obese or Overweight Adults*. *J Nutr* 145(8), 1808-1816. doi:10.3945/jn.115.213660.
- Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Fuentes, F., Ovalle-Marin, A., Parra-Ruiz, C., Zamora, O., . . . Garcia-Diaz, D. (2016). Extracts of Chilean native fruits inhibit oxidative stress, inflammation and insulin-resistance linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *Journal of Functional Foods* 27, 69-83. doi:10.1016/j.jff.2016.08.052.
- Reyes-Farias, M., Vasquez, K., Ovalle-Marin, A., Fuentes, F., Parra, C., Quitral, V., . . . Garcia-Diaz, D. F. (2015). Chilean native fruit extracts inhibit inflammation linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *J Med Food* 18(5), 601-608. doi:10.1089/jmf.2014.0031.
- Ruiz, A., Hermosin-Gutierrez, I., Mardones, C., Vergara, C., Herlitz, E., Vega, M., . . . von Baer, D. (2010). Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. *J Agric Food Chem* 58(10), 6081-6089. doi:10.1021/jf100173x.

- Sorensen, T. I., Virtue, S., & Vidal-Puig, A. (2010). Obesity as a clinical and public health problem: is there a need for a new definition based on lipotoxicity effects? *Biochim Biophys Acta* 1801(3), 400-404. doi:10.1016/j.bba-lip.2009.12.011.
- Soto-Covasich, J., Reyes-Farias, M., Torres, R. F., Vasquez, K., Duarte, L., Quezada, J., ... Garcia-Diaz, D. F. (2020). A polyphenol-rich Calafate (*Berberis microphylla*) extract rescues glucose tolerance in mice fed with cafeteria diet. *Journal of Functional Foods* 67, 103856.
- Speisky, H., Lopez-Alarcon, C., Gomez, M., Fuentes, J., & Sandoval-Acuna, C. (2012). First web-based database on total phenolics and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of fruits produced and consumed within the south Andes region of South America. *J Agric Food Chem* 60(36), 8851-8859. doi:10.1021/jf205167k.
- Terra, X., Montagut, G., Bustos, M., Llopiz, N., Ardevol, A., Blade, C., . . . Blay, M. (2009). Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *J Nutr Biochem* 20(3), 210-218. doi:10.1016/j.jnutbio.2008.02.005.
- Valdecantos, M. P., Perez-Matute, P., & Martinez, J. A. (2009). [Obesity and oxidative stress: role of antioxidant supplementation]. *Rev Invest Clin* 61(2), 127-139. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19637727>.
- Vincent, H. K., Bourguignon, C. M., Vincent, K. R., Weltman, A. L., Bryant, M., & Taylor, A. G. (2006). Antioxidant supplementation lowers exercise-induced oxidative stress in young overweight adults. *Obesity (Silver Spring)* 14(12), 2224-2235. doi:10.1038/oby.2006.261.
- Vincent, H. K., & Taylor, A. G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)* 30(3), 400-418. doi:10.1038/sj.ijo.0803177.
- Wang, J., & Mazza, G. (2002a). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 50(15), 4183-4189. doi:10.1021/jf011613d.

- Wang, J., & Mazza, G. (2002b). Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 50(4), 850-857. doi:10.1021/jf010976a.
- WHO. (2018). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Yang, R. L., Li, W., Shi, Y. H., & Le, G. W. (2008). Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: a microarray analysis. *Nutrition* 24(6), 582-588. doi:10.1016/j.nut.2008.02.002.
- Yang, D. J., Chang, Y. Y., Hsu, C. L., Liu, C. W., Lin, Y. L., Lin, Y. H., . . . Chen, Y. C. (2010). Antiobesity and hypolipidemic effects of polyphenol-rich longan (*Dimocarpus longans* Lour.) flower water extract in hypercaloric-dietary rats. *J Agric Food Chem* 58(3), 2020-2027. doi:10.1021/jf903355q.
- Yoshikawa, M., Shimoda, H., Nishida, N., Takada, M., & Matsuda, H. (2002). *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats. *J Nutr* 132(7), 1819-1824. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097653>.

Capítulo 4

Técnicas de extracción y estabilización de ingredientes

**Cristina Vergara H.^{1*}, Carolina Astudillo Castro², Izabela Dutra Alvim³
María Ximena Quintanilla⁴**

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

² Escuela de Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso
2360100, Chile

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

⁴ Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, Bogotá, Colombia

*cristina.vergara@inia.cl

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

4.1 Técnicas de extracción

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

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

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

Todas estas técnicas tienen objetivos comunes dado que buscan:

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

Separación por membranas

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

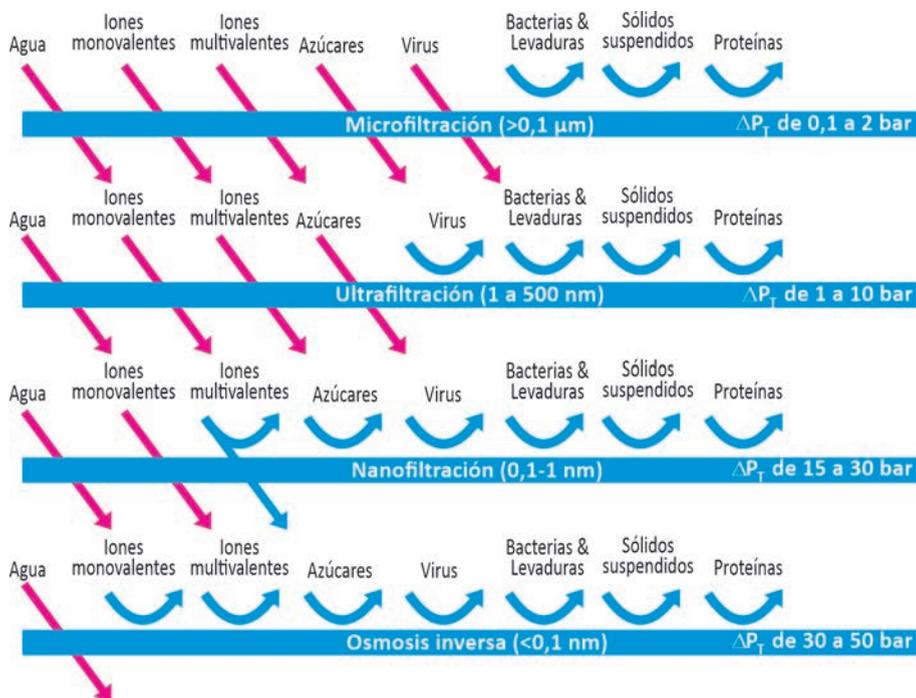


Figura 4.1. Esquema de qué tipo de sustancias son capaces de atravesar las membranas de cada tipo de filtración tangencial, junto con los tamaños de poro y rangos de presión típicos de operación (Fuente: adaptado de Cheryan, 1998; Pouliot, 2008).

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

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

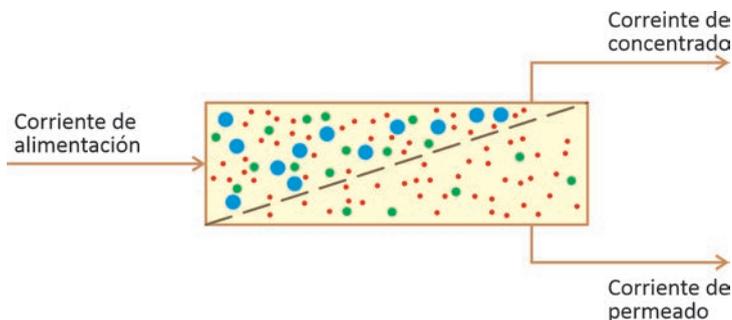


Figura 4.2. Denominación de las corrientes durante una filtración por membranas. En azul se presentan partículas completamente retenidas, en verde, parcialmente retenidas y en rojo, partículas que permean libremente (Fuente: elaboración propia de C. Astudillo).

y el coeficiente de rechazo se relaciona con la proporción entre la concentración de la corriente de permeado y la de alimentación al sistema. Un coeficiente de rechazo de un 100% para un soluto significa que la concentración de ese soluto en la corriente de permeado es cero o bien, muy pequeña con respecto a la de la alimentación, por lo tanto, la membrana es selectiva para ese soluto. Mientras que un coeficiente de rechazo de un 0% significa que la concentración en permeado y alimentación son prácticamente la misma, por ende, la membrana no sería selectiva. Comercialmente las membranas de MF suelen venderse de acuerdo a su tamaño de corte en micrómetros, mientras que las de UF en Da o kDa (Cheryan, 1998). El tamaño de corte se define como la masa molecular de un soluto que será retenido en un 90% por la membrana (Castro-Muñoz *et al.*, 2020), pero como las moléculas tienen diferentes formas y conformaciones - lineales o esféricas-, es difícil saber *a priori* cómo será la separación con una membrana, sin hacer pruebas experimentales. Por otra parte, las membranas de NF y OI se venden con siglas de acuerdo al proveedor y se informa el coeficiente de rechazo de $MgSO_4$ para NF y $NaCl$ para OI, lo cual algunas veces dificulta la elección cuando se trabaja con compuestos orgánicos. Las membranas disponibles en el mercado son asimétricas, es decir, están constituidas de un soporte y una capa activa, siendo esta última la que realiza la separación, comercializándose en dos tipos de materiales: Inorgánicas y poliméricas. Las primeras tienen mejor resistencia química y térmica, pero como desventaja son menos resistentes mecánicamente, además de presentar elevado costo y disponibilidad en un rango limitado (desde MF hasta NF). Por otra parte, las poliméricas se encuentran disponibles para todo el rango de tamaños de poro (desde MF hasta OI).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

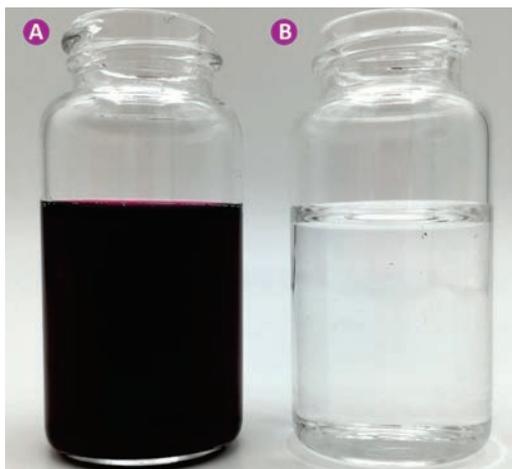


Figura 4.4 Muestras de permeados obtenidos de jugo de papa de pulpa de color morada: Permeado de jugo de papa libre de almidón que corresponde a la alimentación de la NF (A) y Permeado de NF que es totalmente incoloro (B) (Fuente: Laboratorio Membranas PUCV).

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

4.2 Microencapsulación

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

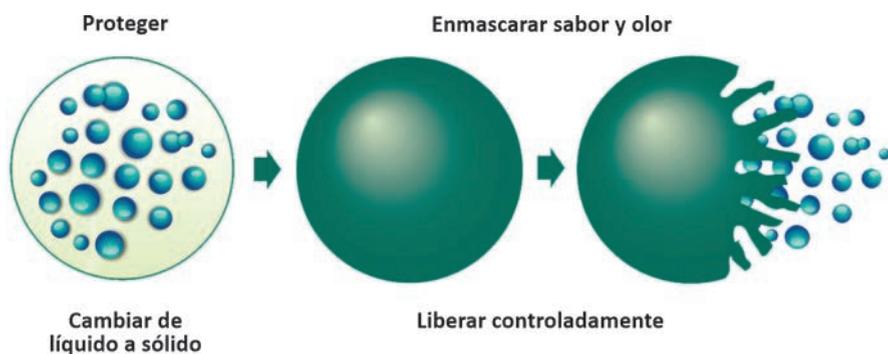


Figura 4.5. Esquema de microencapsulación de ingredientes y sus efectos de estabilización (Fuente: Laboratorio UMPA-INIA).

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

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



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



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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

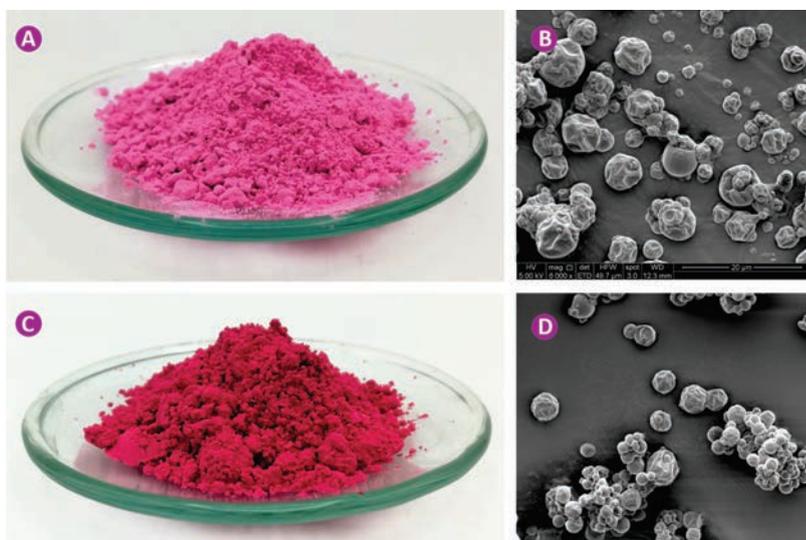


Figura 4.9. Microencapsulados y morfología de sus partículas mediante microscopía diferencial de barrido, para: extracto de papa de pulpa de (PPC) color morada (A), partículas mediante microscopía para maltodextrina + PPC (B), extracto de zanahoria morada (C) y partículas mediante microscopía para maltodextrina+zanahoria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

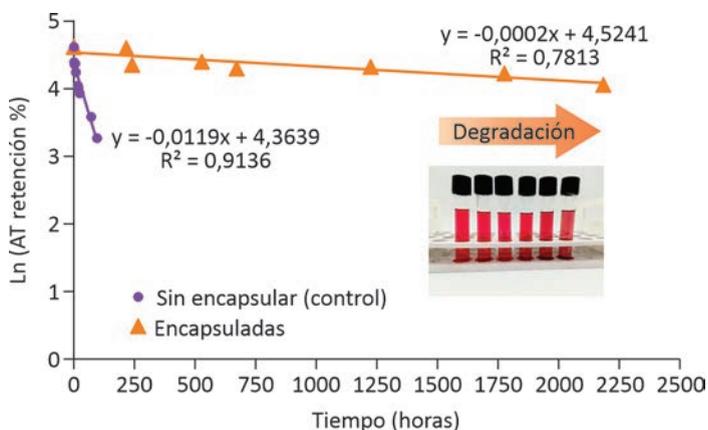


Figura 4.10. Cinética de degradación de antocianinas de zanahoria morada encapsuladas y sin encapsular (Fuente: Laboratorio UMPA-INIA).

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

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

4.3. Tecnologías combinadas de microencapsulación para estabilización de ingredientes

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

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

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

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

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

Colorante natural hidrofílico aplicado en yogurt

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

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

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

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

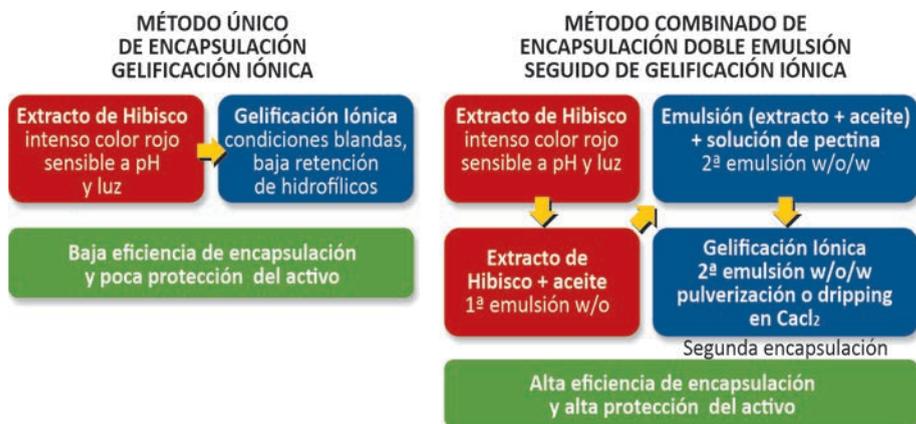


Figura 4.11. Comparación entre métodos único Y combinado para encapsulación del extracto de hibisco (Fuente: adaptado de, “de Moura” et al., 2018, 2019).

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

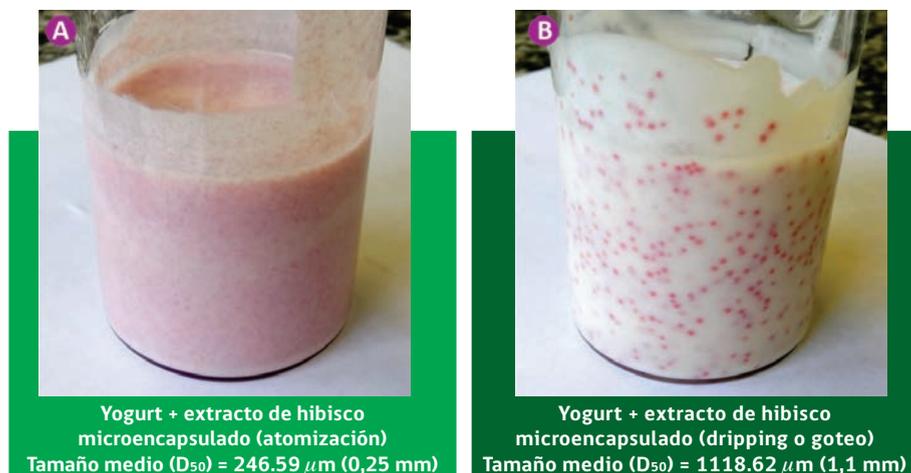


Figura 4.12. Apariencia del Yogurt con aplicación de encapsulados de hibiscu micro encapsulado (Fuente: imágenes cedidas por la Dra. S.C.S.R. de Moura a I. Dutra Alvim).

Extracto concentrado de té verde y su aplicación en helados

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

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



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

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

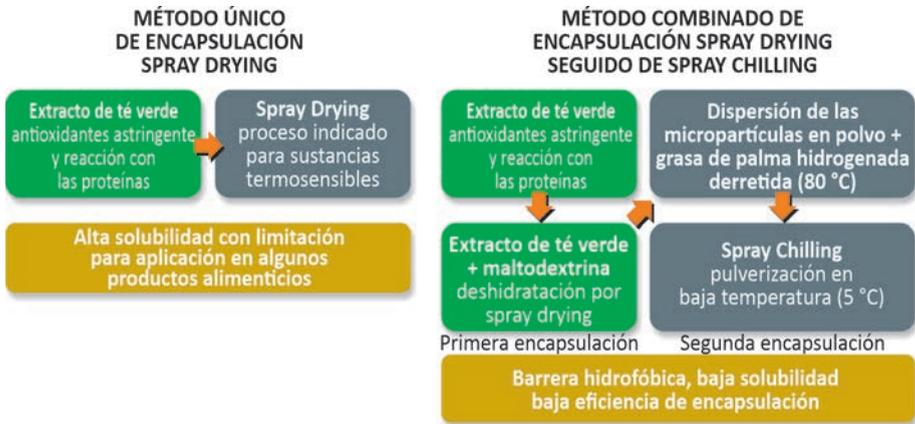


Figura 4.14. Comparación entre métodos único e combinado para encapsulación del extracto de té verde: SPRAY DRYING. (Fuente: adaptada por I. Dutra Alvim de Cutrim et al., 2019).

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

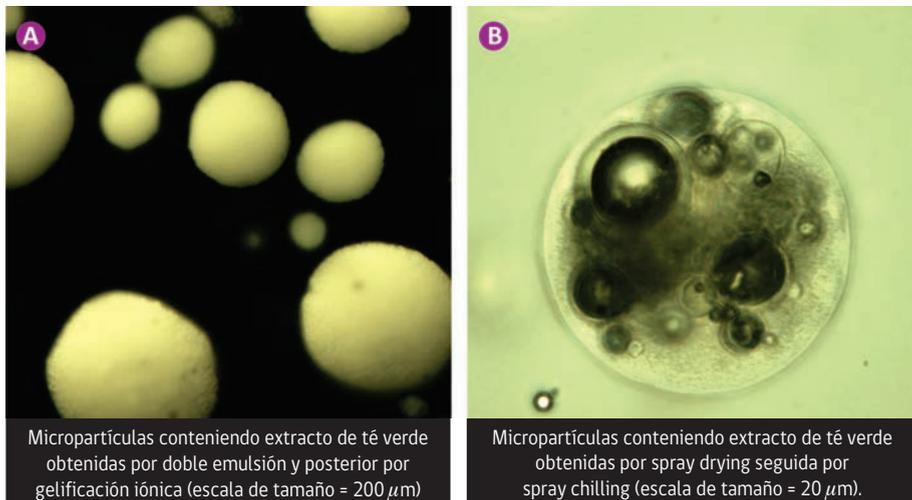


Figura 4.15. Morfología externa de partículas obtenidas para extracto de té verde encapsulado por doble emulsión y gelificación iónica (A) y extracto de té verde obtenidas por spray drying seguida por spray chilling (B) (Fuente: imágenes cedidas por Dra. C.S. Cutrim).

4.4 Emulsiones

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

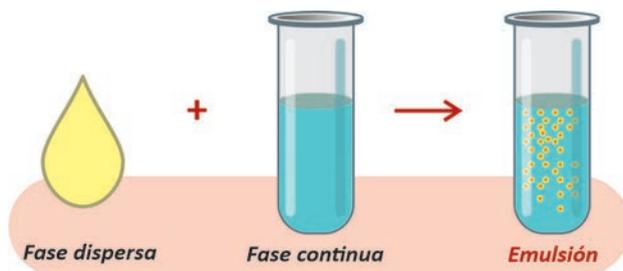


Figura 4.16. Formación de una emulsión (Fuente: elaboración propia de M.X. Quintanilla).

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

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

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

- Emulsiones múltiples: rango de tamaño de 0,1 a 5 μm
- Emulsiones micelares o microemulsiones: rango de tamaño de 5 a 50 nm
- Nanoemulsiones: rango de tamaño de 10 a 100 nm

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



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

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

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

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

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

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

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

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

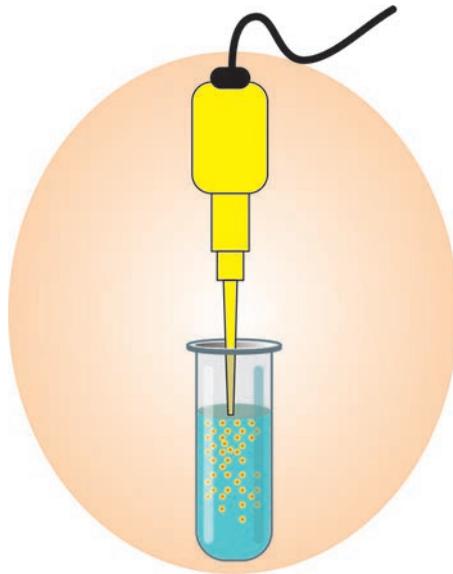


Figura 4.18. Formación de una nano emulsión (Fuente: elaboración propia de M.X. Quintanilla).

Conclusión

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

Literatura citada

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

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

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

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

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

Capítulo 5

Principales materias primas utilizadas como colorantes y avances en Chile

María Teresa Pino^{1*}, Elizabeth Kehr², Luis Inostroza³, Julio Kalazich^{4a}, Marco Uribe⁴, Manuel Muñoz⁴, Francisco Álvarez¹, María Jesús Greve^{2b}

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

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Carillanca. Casilla 929. Vilcún, Chile. ^{2b}(INIA hasta octubre 2020).

³ Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Quilamapu. Chillán, Chile.

⁴ Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Remehue. Osorno, Chile.

^{4a}(INIA hasta diciembre 2018).

*mtpino@inia.cl

5.1 Materias primas para colorantes naturales

La preferencia de los consumidores por alimentos con etiquetado limpio -libre de aditivos químicos o sintéticos- dictan la pauta en la industria de alimentos y bebidas. Las tendencias del mercado son claras, el consumidor muestra mayor confianza y demanda por ingredientes naturales y orgánicos, incluso prefieren ingredientes de fuentes más reconocibles porque el color de los alimentos conectaría a los consumidores con valores específicos y experiencias vividas. El 63% de los consumidores serían más proclives a comprar una marca que reemplaza los colores sintéticos por colores de fuentes naturales, con etiqueta limpia Clean-label. Esta realidad ha impulsado el crecimiento del concepto de "alimentos que colorean" o "Food Coloring" lo cual permite utilizar jugos de frutas y vegetales altamente concentrados que además de entregar color entregan salud debido a sus ingredientes o metabolitos como antioxidantes entre otras (Vergara *et al.*, 2020; Sensient 2021a, 2021b).

Para la expansión del mercado y precio de los colorantes naturales o alimentos que colorean (Food Coloring) la disponibilidad limitada de dichas materias primas es un factor clave. Entre los principales países productores

de materias primas para colorantes naturales destacan países como Turquía, China, Francia, Italia, y España. La proyección de la demanda en el corto y mediano plazo por colorantes naturales requiere que entren nuevos actores, con el propósito de aumentar la oferta y solucionar dificultades asociadas a la búsqueda de nuevos colorantes naturales, abriendo así una oportunidad a países en desarrollo en Latino América, África y Asia pacífico. En la actualidad, Perú es el mayor productor de cochinilla (*Dactylopius coccus* C.) para la extracción de rojo carmín, seguido por México y Chile quienes también exportan cochinilla con este propósito, más detalles del mercado y sus proyecciones son discutidos en el Capítulo 1 de esta publicación.

Es importante destacar, que un desafío permanente es buscar alternativas naturales basadas en plantas “Plant-based” para lograr rojos brillantes estables y diversificar la paleta de materias primas para obtener azules y verdes naturales. El carmín de cochinilla o carmín (E120) es un colorante rojo que se obtiene de las hembras desecadas del insecto *D. coccus* C. (cochinilla) que, a pesar de su origen natural, su uso causa algún grado de rechazo y cuestionamiento en el consumidor (Arif, Ahmad y Ahmad, 2021). Las antocianinas son colorantes alimentarios naturales que conquistan adeptos entre los consumidores, porque se encuentran en muchas frutas y verduras, van desde el rojo al azul, poseen propiedades beneficiosas para la salud y contrarrestan el “aging” o envejecimiento celular (Mahapatra y Bharti, 2020; Hair, Sakaki y Chun, 2021). En la **Tabla 5.1** se listan las principales materias primas naturales utilizadas para extraer color, de compuestos como curcumina, antocianinas, capsantina, capsorrubina, espirulina, clorofila, carotenoides y rojo carmín, entre otros (**Figura 5.1**).

Entre los principales desafíos que enfrentan los colorantes naturales obtenidos a partir de materias primas naturales (vegetales, insectos, otros), están: asegurar a los fabricantes la óptima estabilidad del color y la compatibilidad tanto con los sabores como con el pH, en bebidas energéticas, aguas saborizadas, dietéticas, lácteos, jaleas, golosinas, entre otros. Así como también, asegurar la constante disponibilidad y bajo costo, por lo cual la disponibilidad limitada de dichas materias primas es un factor clave en el aumento de los precios y que podría restringir el crecimiento del mercado (Pino y Zamora, 2018; Sensient, 2021a, 2021b). Contrariamente, los colorantes sintéticos son estables y más baratos que los colorantes de origen natural, pero la mayoría de ellos están asociados a efectos adversos en la salud y han sido prohibidos en varios países, como E102 Tartrazina en Finlandia y Noruega, E129 Rojo 40 en Europa, el E133 Azul y E132 Azul ambos

Tabla 5.1. Principales materias primas para la producción de colorantes naturales.
(Fuente: adaptado de Pino y Zamora, 2018).

Color	Compuesto	Materias Primas
 Amarillo	Xantofilas	Pimientos amarillos
 Amarillo brillante	Curcumina	Cúrcuma
 Amarillo intenso	Luteína	Marigold o Tagete
 Anaranjado intenso	Bixina	Frutos de Palma Aceitera, semilla de achiote (Annatto), Camote naranja
 Anaranjado Rojo	Betacarotenos	Frutos de la Palma aceitera, Zanahoria naranja y algas
 Rojo anaranjado	Licopeno, Capsantina, Capsorrubina	Tomate Pimientos rojos Paprika
 Rojo brillante	Ácido carmínico	de la cochinilla del carmín (<i>Dactylopius coccus</i>)
 Rojo- azul	Betatina	Betarraga
 Rojos, púrpuras y azules	Antocianinas	Zanahoria negra, camote morado, uva tintorera, sauco, maíz morado
 Verde	Clorofilas	Espinaca, alfalfa, otros
 Azul	Espirulina	Espirulina
 Caramelo	Melanoides	Caramelo, malta, manzana



Figura 5.1. Materias primas para la extracción de colorantes naturales: tono amarillo-anaranjado intenso de la semilla de Achiote o Annatto (A), cochinilla o *Dactylopius coccus* (B), rojo carmín (E120) a partir de las hembras desecadas de cochinilla (C), tono amarillo fuerte desde extractos de Marigold o Tagete (D) (Fuente: adaptado de <https://www.achiote.org/> y <https://revista192.com/el-origen-del-carmin/>).

prohibidos en algunos países de Europa como Francia, Finlandia y Noruega, E151 Negro brillante NB no autorizado en Estados Unidos, Canadá ni Japón (Pino y Zamora, 2018; Mahapatra y Bharti, 2020; Biswas *et al.*, 2021).

Para competir en el mercado mundial de los colorantes naturales, Chile necesita ofrecer materias primas competitivas en términos de rendimiento de color por hectárea, costos de producción y calidad del color. En este contexto, el INIA ha trabajado en proyectos para identificar y desarrollar materias primas para los colores naranja, rojos a morados intensos, verdes y altos en antioxidantes; así como, generar ingredientes, tanto a escala piloto como con la industria, a partir de estas. Otro desafío es contar con las capacidades en la industria nacional para obtener colores estables y de óptima calidad.

5.2 Materias primas con potencial en Chile

En este capítulo se analizan cuatro materias primas; zanahoria morada (ZM), papas de pulpa de color (PPC) morada y roja, camote o boniato naranja (CN) y alfalfa (ALF) para clorofilas.

La **Tabla 5.2** detalla el análisis proximal de cinco materias primas frescas evaluadas como fuente para color, Food Coloring y antioxidantes durante las temporadas 2018 a 2021. Respecto al aporte calórico, el camote (CN) fue la materia prima con mayor aporte calórico (86 kcal/100g de producto fresco), seguido por la PPC-roja (66 kcal/100g de producto fresco), luego por la PPC-morada y la ALF. El sabor dulce del CN está dado por azúcares simples; principalmente por sacarosa seguida de fructosa y glucosa (Marti *et al.*, 2011). ZM fue la materia prima con menor aporte calórico (26,6 kcal/100g de producto fresco), lo cual en términos de nutrición es recomendado para personas con problemas de obesidad y de diabetes Tipo 2. El porcentaje de proteínas es similar para todas las raíces o tubérculos evaluados (ZM, PPC, CN), con porcentajes entre 1,6% a 1,9%, valores ampliamente superados en la ALF (3,7%). Varios estudios reconocen a la alfalfa como una buena fuente proteica para animales, aves y algunos peces como la tilapia (Coburn *et al.*, 2021). El contenido de proteínas en ALF fresca es de 3,66% (ver **Tabla 5.2**), valor por sobre lo reportado para otras especies altas en clorofilas como espinaca (2,9 %).

El camote (CN) tiene una concentración de sodio de 15-50 mg/100g de peso fresco, lo cual significa que esta raíz sería recomendable para incluirla en un

plan de alimentación con una restricción de sodio de 500 mg/día, en pacientes con hipertensión arterial (HTA). En las otras materias primas, como PPC y ALF, la concentración de sodio fue menor a 10 mg/100g peso fresco (**Tabla 5.2**). El aporte de sodio de la alfalfa (9,84 mg/100g) está muy por debajo de la espinaca (79 mg/100g). Para ZM, el sodio se evaluó en su extracto concentrado, alcanzando un valor promedio de 168,2 mg de sodio/100 g de polvo liofilizado, según el método basado en AOAC 969.23 18th Ed.2005, F-AAS/PTQT06 rev06 de Eurofins.

Tabla 5.2. Análisis proximal y fibra dietaria de materias primas frescas (zanahoria morada, papas de pulpa de color, camote y alfalfa) temporadas 2018-2021 (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Análisis	Zanahoria Morada	Papa pulpa morada	Papa pulpa roja	Camote naranja	Alfalfa
Energía (Kcal/100g)	26,6	47,3	66,1	86,0	47,1
Humedad (%)	89,7	86,3	79,5	74,9	81,2
Hidratos carbono disponible (%)	4,6	9,9	14,4	20,0	4,97
Azúcares totales (%)	3,7	1,5	1,0	4,2	0,8
Proteínas (%)	1,6	1,7	1,9	1,6	3,7
Materia grasa (%)	0,2	0,1	0,1	0,1	1,4
Cenizas (%)	0,3	1,2	1,1	0,4	1,9
Sodio (mg/100g)	-	4,9	8,6	15-50*	9,8
Fibra Dietaria total (%)	3,6	0,8	3,0	2,3**	6,9
- Fibra Dietaria soluble (%)	0,8	0,7	2,9	1,2**	<1,0
- Fibra Dietaria insoluble (%)	2,8	0,1	0,1	1,1**	6,3

Nota: Los análisis se realizaron en EUROFINS y para alfalfa en ANALAB**, de acuerdo a los siguientes métodos: método interno INSCalQ02 para determinar Energía, método NCh841 of.78 para Humedad, método interno INSCalQ02 para Hidratos de carbono, método interno PTQA11 rev 07 para azúcares totales, método interno PTQA80 rev 05 para proteínas, método basado en AOAC 945.18 para materia grasa, método AOAC 942.05 para cenizas, método basado en AOAC 969.23 para sodio, método basado en AOAC 985.29 para fibra dietaria total, método AOAC 993.19 para fibra dietaria soluble, método AOAC 991.42 para fibra dietaria insoluble. Detectado bajo límite de cuantificación. LoQ: 2mg/100g. LoD: 0,5mg/100g.

*Vidal et al., (2018),

**Mullin et al., (1994).

Es importante destacar que la fibra dietaria total tiene un efecto positivo en la salud, particularmente la fibra insoluble para mejorar el tránsito intestinal y disminuir el riesgo de enfermar de cáncer de colon. En los cultivos de raíces y tubérculos estudiados (**Tabla 5.2**), la ZM fue alta en fibra dietaria total (3,8%)

y fibra dietaria total insoluble (2,8%), por lo tanto, un liofilizado de ZM además de aportar antioxidantes y antocianinas, aporta fibra insoluble. La PPC roja, es un tubérculo que alcanzó un valor interesante de fibra dietaria total (3,0%) y fibra dietaria soluble (2,9%), es importante que la fibra dietaria soluble destaca por sus propiedades de hidratación que conducen a la producción de AGCC que estimulan la producción de GLP1 y PYY (hormonas que regulan el apetito y la saciedad) contribuyendo así a la modulación del sobrepeso y la obesidad (Vilcanqui y Vélchez, 2017). El camote entrega una cantidad equilibrada de fibra dietaria soluble e insoluble según Mullin *et al.*, (1994). La alfalfa entrega un alto aporte de fibra dietaria insoluble (6,3%), es importante considerar que para efectos de un colorante verde o de un extracto de clorofila se debe eliminar la fibra.

Zanahoria morada (ZM)

La zanahoria (*Daucus carota*) es una especie originaria de Asia Central, los primeros indicios de su domesticación datan en Irán y Afganistán 3000 años a.C. Sin embargo, fue a partir del siglo XVI que se expandió por toda Europa y al resto del mundo. Originalmente, la zanahoria era de raíz negra, blanca, roja y púrpura. Los colores anaranjados de la zanahoria moderna aparecen en el siglo XVII producto del mejoramiento genético realizado en Holanda. La señal más reveladora del color de las zanahorias originales viene del Egipto antiguo, donde se encontró evidencia en las tumbas de faraones y en las pinturas jeroglíficas, las cuales muestran que el color más popular fue el púrpura (Ellison, 2019).

Propiedades funcionales de interés de la ZM para el mercado de “salud y bienestar”

La zanahoria morada, o zanahoria negra, se caracteriza por su alto contenido de antocianinas (**Figura 5.2**), responsables de su coloración roja a morada, según los descrito en varias fuentes (Montilla *et al.*, 2011; Akhtar *et al.*, 2017). Las antocianinas presentes en la ZM son estables en condiciones de pH ácido, y en la actualidad son usadas como colorante natural en diferentes matrices alimentarias tales como jugos, bebidas, yogurt, jaleas y confites (Khandare *et al.*, 2011; Murali *et al.*, 2015). Las antocianinas en la ZM son pigmentos naturales que aplican bajo la clasificación de colorantes naturales, del tipo E-163, y se utilizan como reemplazo de colorantes rojos sintéticos y del rojo carmín de cochinilla (Flavorix, 2018). Además, por la capacidad antioxidante de las antocianinas, varios estudios la han asociado a propiedades beneficiosas para la salud tales como efecto anti-oxidante, anti-diabético, y anti-inflamatorio (Stintzing y Carle,



Figura 5.2. Zanahoria morada o negra, extracto de color en formato líquido (65°Brix), en formato polvo seco por atomización y encapsulado (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

2004; Esatbeyoglu *et al.*, 2016; Akhtar *et al.*, 2017). Recientemente y además de su actividad antioxidante, estudios reportaron que sus extractos inhibieron la proliferación de células cancerígenas en mamas (Jayaprakasha *et al.*, 2019), mejoraron la actividad microbiana intestinal y el perfil de lípidos séricos en ratas (Żary-Sikorska *et al.*, 2019). Los polifenoles de la ZM cumplirían un rol relevante en la salud gastrointestinal y del colon (Dong *et al.*, 2021).

Zanahoria Morada - características como colorante y antioxidante en Chile

El manejo agronómico realizado de la zanahoria morada (ZM) en cuatro zonas geográficas ha permitido lograr una muy buena concentración de antocianinas y del color (ver **Tabla 5.3**). La concentración de antocianinas de ZM fluctuó entre 2034 y 3872 mg de cianidina-3-glucósido (C3G) /Kg base peso seco, dependiendo de la zona geográfica donde fue evaluada en Chile. Todos los valores obtenidos, fueron superiores al publicado para ZM cosechada en la zona Mersin en Turquía (1252 mg C3G/ kg peso seco) (Ersus y Yurdagel, 2007). Datos complementarios de la provincia de Guizhou (China),

Tabla 5.3. Característica de Zanahoria Morada (Híbrido DP) en la materia prima (raíz) a la cosecha en distintas zonas geográficas (Temporadas 2018 – 2021).

Zona Geográfica	AT (mg C3G/kg peso seco)	Color (E1%)	Sólidos solubles (°Brix)	Materia seca (%)
Buín, RM	3197,27b	0,86ab	12,90ab	19,03a
María Pinto, RM	3871,60a	0,67c	10,73b	12,83d
Leyda, Región de Valparaíso.	3781,43a	0,77bc	12,60ab	15,13
Maquehue, Región de la Araucanía	2034,67c	0,91a	17,43a	16,93b
Vilcún, Región de la Araucanía	2185,23c	0,50d	9,20b	14,10c
Mersin, Turkía	1252 ±17*	-	-	-

Donde, **Antocianinas totales (AT)** se determinaron por el método de pH-diferencial en base a equivalentes de Cianidina-3-Glucósido (C3G) por peso fruto seco (espectrofotómetro Jasco V-700). **Color (E1%)**, es el Punto de color expresado como el valor del coeficiente de extinción de una solución coloreada al 1% a longitud de onda de máxima absorbancia (520 nm) en Espectrofotómetro (Jasco V-700). Los **sólidos solubles (° Brix)** en fruta fresca se evaluaron con refractómetro digital (Hanna HI 96801).

*Ersus y Yurdagel (2007).

Análisis de la varianza y comparación de medias, letras distintas dentro de cada columna indican que son significativamente diferentes ($p > 0.05$) según Test-Tukey. (INFOSTAT versión 04/30/2020),

reportaron que la concentración de antocianinas en nueve genotipos de ZM varió entre 103 y 2923 mg C3G/Kg peso seco dependiendo del genotipo (Ma *et al.*, 2021).

Es importante destacar que los predios de Maquehue (región de la Araucanía), de María Pinto (región Metropolitana) y de Leyda (región de Valparaíso) estuvieron en manos de agricultores con superficies entre 0,5 a 1,0 hectáreas. La mayor concentración de antocianinas y de color se logró en la localidad de Buín (región Metropolitana), en el predio Los Tilos del INIA, donde el manejo del riego por goteo y agronómico fue cercano a lo óptimo (ficha agronómica adjunta). Esto confirma los buenos resultados obtenidos en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488 entre agricultores, respecto a la intensidad de color de la ZM como materia prima, expresado como punto de color E1% (unidad utilizada en la industria de colorantes), los valores logrados al momento de la cosecha en la

raíz fluctuaron entre 0,5 E1% y 0,97 E1% (ver **Tabla 5.3**), los cuales son valores muy interesantes para alcanzar un concentrado de color de alta calidad ya sea en formato líquido o formato polvo. Como referencia en la industria de Turquía, el colorante de zanahoria morada se vende como concentrado líquido a 65°Brix y 4,0 E1%. Empresas internacionales expertas en color, como CHR Hansen y Sensient Technologies, concentran aún más este producto, llegando a valores entre 8 y 9 E1%. Para lograr un buen rendimiento industrial, en términos de color en formato líquido (jugo concentrado a 65°Brix), al momento de la cosecha la materia prima debe lograr la máxima concentración de antocianinas totales, punto de color (E1%>0,4) y sólidos solubles (>10°Brix). En Chile, a pesar que se logran en el campo buenos resultados en materia prima (0,5 a 0,97 E1%), existe una limitante importante para superar los 4,0 E1% luego de la concentración a 65°Brix en planta de proceso, lo cual se explica porque no existe la capacidad industrial instalada en Chile para extraer el máximo color de esta materia prima y concentrarlo a sobre 8 puntos de color.

Siguiendo el análisis de la **Tabla 5.3**, otras características relevantes en ZM son los sólidos solubles (°Brix) y porcentaje de materia seca (M.S.%) porque estos determinarán el rendimiento total. En Chile, el rango de los sólidos solubles en ZM estuvo entre los 9°Brix y 17°Brix y para materia seca el rango estuvo entre 13% y 19%. Entre menos agua y más sólidos solubles tenga la materia prima, mayor será el rendimiento como concentrado de color en formato líquido y en formato polvo. Para el formato líquido entre más alto sean los sólidos solubles en campo se necesitará menor energía para eliminar agua de la materia prima y llegar a 65°Brix y por ende existirá un mayor rendimiento de jugo concentrado para color por hectárea. Respecto al color, tuvo una asociación positiva alta con sólidos solubles y antocianinas totales en fruto fresco (>0,85). Para un liofilizado alto en antioxidantes, es relevante la concentración de A.T., S.S. (°Brix) y M.S. (%), así como los polifenoles totales (PFT) y actividad antioxidante (ANTIOX o FRAP). De acuerdo con la **Figura 5.3** y la matriz de correlaciones, en ZM, la actividad antioxidante tuvo una asociación positiva con los PFT en base a peso seco (>0,6) y a su vez los PFT mostraron una mejor asociación con AT y color E1% (>0,7). La ZM cultivada en la zona central (Buin, María Pinto, y Leyda) logró consistentemente mejor color y concentración de antocianinas (ver **Tabla 5.3**), con actividad antioxidante entre 124,3 y 159,4 $\mu\text{mol Trolox/g}$ peso seco. Sin embargo, la ZM no mostró diferencias estadísticamente significativas en su actividad antioxidante, entre las localidades (Vilcún, Buin, María Pinto y Leyda), particularmente cuando fue evaluada en base a peso seco (p-value 0,0832 y CV 14,56%).

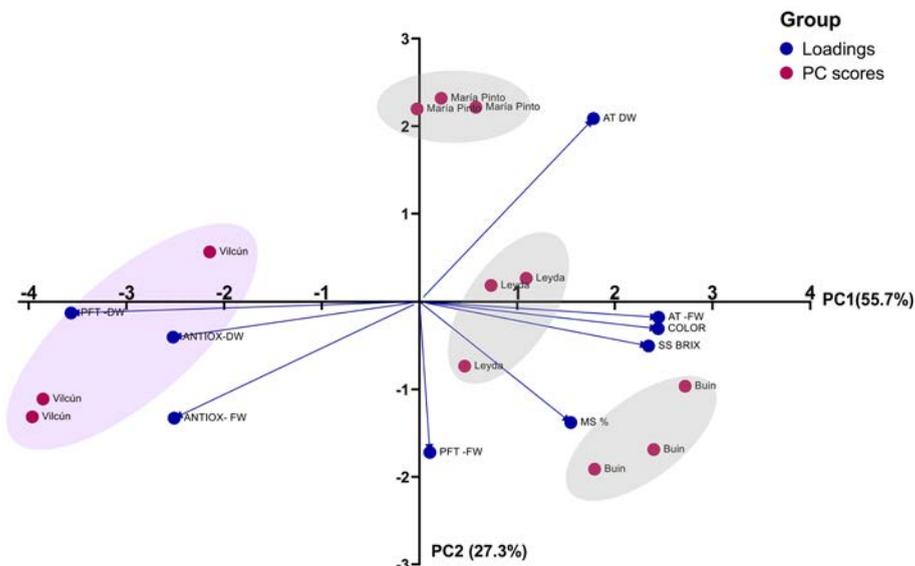


Figura 5.3. Análisis de componentes principales (ACP) para Zanahoria Morada (Híbrido DP) cultivada en las regiones de la Araucanía (Vilcún), Metropolitana (Buin y María Pinto) y Valparaíso (Leyda) entre 2018 y 2021. Donde, ACP incluyó M.S. (%), S.S.(BRIX), Color (E1%), AT, PFT y actividad antioxidante (ANTIOX o FRAP). **AT**, antocianinas totales se determinaron por pH-diferencial como equivalentes de Cianidina-3-Glucósido mg C3G/peso (espectrofotómetro Jasco V-700). **PFT**, polifenoles totales por Folin-Ciocalteu como mg EAG/peso. **ANTIOX**, según FRAP como μ moles Trolox/peso. Tanto AT, como PFT y ANTIQX se determinaron en base a peso fresco (FW) y peso seco (DW). ACP y matriz de correlaciones se analizaron con el *Programa GraphPad Prism versión 9.3.0*.

El perfil de antocianinas mediante HPLC determinó la presencia de seis peaks en Zanahoria Morada correspondientes a antocianinas del grupo cianidinas, y sus derivados. En menor concentración se detectó peonidina, tal como lo resultados previos reportados por INIA y alineados con literatura externa tanto para materia prima fresca como para jugo o extracto en polvo (Vergara *et al.*, 2019).

Productos desarrollados en base a Zanahoria Morada en Chile

La ZM puede ser procesada para obtener ingredientes y aditivos naturales, como colorante en formato líquido y en formato polvo soluble mediante secado por atomización (Spray Dried Powder) y Food Coloring. También, se comercializa liofilizada en polvo como un antioxidante alto en fibra, o deshidratados, o en snacks (ver **Tabla 5.4**, **Figuras 5.4** y **5.5**).

Tabla 5.4. Resumen del portafolio de ingredientes y productos desarrollado en base a Zanahoria morada en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

Producto del Portafolio	Etapas
Extracto de zanahoria morada concentrado líquido a 65° Brix y 4 puntos de color. Uso: colorante natural	Producto comercial Resolución sanitaria, BRC, HACCP, Kosher
Liofilizado de Zanahoria morada como antioxidantes. Uso: Antioxidante	Producto comercial Resolución sanitaria, BRC, HACCP, Kosher
Extracto de zanahoria morada en polvo soluble (Spray Dried) para colorante. Uso: colorante natural	Producto pre-comercial y comercial
Jugo concentrado de ZM, B2B o B2C Uso: Bebida funcional	Producto etapa pre-comercial



Figura 5.4. Productos elaborados a partir de zanahoria morada en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488: Extracto para colorante natural en formato polvo soluble (secado por atomización) elaborado con ALFA Group (A). Bebida funcional (B2B o B2C) elaborado por AIMA a partir del extracto de ZM como concentrado líquido (B). Extracto para colorante natural en formato líquido concentrado (65°Brix y 4 E1%) con Resolución Sanitaria, BRC, HACCP, Kosher (C). (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).



Figura 5.5. Productos elaborados a partir de los ingredientes de zanahoria morada (ZM) generados por el POLO COLORANTES PYT-2017-0488 para mercados nichos; Pan alto en antioxidantes libre de etiquetas negras (incluye ZM en polvo y libre de gluten) comercializado por healthybakery.cl (A, B). Liofilizado de ZM en polvo con resolución sanitaria y certificaciones BRC, HACCP, Kosher a granel comercializado por el Polo Colorantes (C). Liofilizado en polvo de ZM para mercado B2B (antioxidante tamizado de alta calidad) comercializado por Native for Life (D) (Fuente: Laboratorio UMPA – INIA).

Ficha técnica agronómica de Zanahoria Morada

La zanahoria morada (ZM) se cultiva bien entre la zona central y macrozona sur de Chile incluso en Magallanes, pero para el desarrollo de la industria es necesario que la producción se concentre cerca de las industrias procesadoras para bajar costos por flete. En términos agronómicos si el agua no es una limitante se puede cultivar tanto en la zona central como en la macrozona sur. La macrozona zona central podría tener dos cosechas en el año con una primera siembra a fin de agosto y otra a fin de febrero para cosechar entre 140 a 150 días después de la siembra. Para la macrozona sur, la fecha de siembra es entre fines de septiembre a octubre y la cosecha también se

realiza entre 140 a 150 días después de la siembra (ver Ficha de manejo adjunta). Respecto al momento óptimo para cosechar la zanahoria morada con el objeto de lograr el mejor rendimiento en extracto de color, esta se debe realizar cuando la raíz presente el mayor porcentaje del floema bien coloreado. El **índice de cosecha** óptimo para generar un concentrado alto en color está entre los valores 5 a 7 (ver **Figura 5.6**), lo cual se logra entre los 140 a 150 días después de la siembra. En la medida que la zanahoria morada avanza en la maduración, aparecen raíces secundarias, aumenta el diámetro de la raíz, el diámetro del xilema aumenta e incluso a final se torna leñoso para dar paso al tallo floral, perdiendo los atributos para lograr un máximo rendimiento industrial para ingrediente. En la medida que se retrasa la cosecha comenzarán a aparecer en el campo zanahorias con tallo floral (o bolting) e incluso partidas. Para, lograr un buen rendimiento industrial para extractos concentrados a 65°Brix, en cualquiera de sus formatos (líquido o en polvo) es fundamental alcanzar el máximo valor de sólidos solubles (>10°BRIX), punto de color ($E1\% > 0.4$) y máxima concentración antocianinas totales por peso fresco o seco. En términos de rendimiento, la ZM puede fluctuar entre 40-50 ton/ha, dependiendo del nivel tecnológico y superficie, incluso podría superarlo.



Figura 5.6. Zanahoria morada (Híbrido DP): cosechada a los 150 días después de la siembra (localidad de Buin, región Metropolitana) temporada 2021 (A). Cultivo de zanahoria morada en la localidad de Vilcún, región de La Araucanía temporada 2018 (B). Escala de color de la raíz como índice de cosecha (C). Fuente: adaptado de Vergara *et al.*, (2019).

FICHA TÉCNICA DE ZANAHORIA MORADA

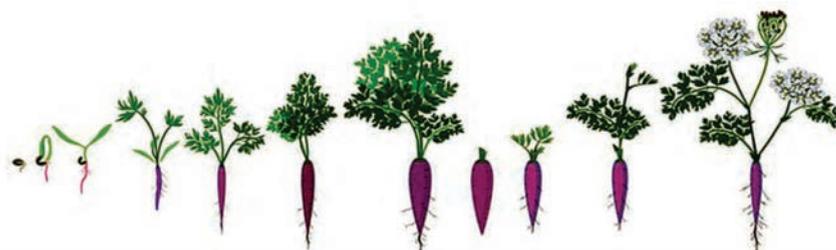
- **ESPECIE:** ZANAHORIA MORADA (ZM), *Daucus carota* L.

- **VARIEDADES:** HÍBRIDO DEEP PURPLE F1, DEEP PURPLE

- **LARGO CULTIVO:** 150 días

- **CICLO DEL CULTIVO:**

El ciclo vegetativo para la zanahoria morada es de 150 días (21 semanas), dependiendo de la fecha de siembra y zona geográfica. La temperatura mínima para la germinación es 8°C, y la óptima está entre 15 y 20°C. Es capaz de tolerar heladas ligeras; puede soportar heladas de hasta -3°C (daño parcial en el follaje), temperaturas ≤5°C producen daños en las raíces, algunos productores conservan la zanahoria en el suelo sino este no es demasiado húmedo o pesado porque podrían prosperar enfermedades fungosas o bacterianas. Temperaturas > 30°C limita el crecimiento aéreo, pero además si es prolongado, afecta el color, sabor, textura de la raíz y acelera el proceso de envejecimiento de la raíz.



Emergencia	Cotiledón	2-3 hojas verdaderas	Elongación	Engrosamiento	Cosecha	Domancia	Hojas rebrote	Tallo floral	Foltración, fructificación
2 sem.	3-10 semanas		11-16 semanas	17-21 sem.	22-29 sem.	30-32 sem.	33 semanas	34-42 semanas	
Primer año: Desarrollo de raíz para consumo						Segundo año: Producción de semilla			

Ciclo biológico y estados fenológicos de la zanahoria morada (<https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4909>)

- **FECHA SIEMBRA A COSECHA:**

Macrozona central: Agosto- enero y/o de febrero - junio

Macrozona sur: Octubre - marzo

- **SUELO Y DENSIDAD DE PLANTACIÓN:**

1.000.000 semillas/hectárea

La siembra se realiza con sembradora neumática, a una dosis entre 1,0-1,3 millones de semillas por hectárea para. La semilla de ZM deberá quedar a una profundidad de unos 5mm y presenta un porcentaje de emergencia entre el 80 y 90%. ZM se desarrolla bien en suelos aireados, ricos en materia orgánica y en potasio, y pH entre 5,8 y 7. Los suelos compactos y pesados originan raíces fibrosas, de menor peso, calibre y longitud, incrementando además el riesgo de incidencia de enfermedades fungosas. La preparación del terreno suele consistir en una labor profunda (subsulado o vertedera), seguida de una labor superficial con cultivador, que permita una cama de semillas mullida de modo de provocar buen contacto entre la semilla y el suelo dado el pequeño tamaño de esta. La siembra se puede realizar en plano, mesas o camellones. Para riego por goteo, suelen utilizarse mesas de 1,5 m de ancho y cuatro hileras de siembra.

La siembra se puede realizar con varios tipos de sembradoras: manuales (de una hasta 6 hileras) o mecanizadas, de plato fijo o de precisión. Cuando se usa semilla de alto valor (precio), se recomienda sembradoras de precisión (neumáticas o cintas alveoladas) porque descargan individualmente cada semilla y son más convenientes cuando las condiciones son propicias, tanto para reducir la cantidad de semilla a utilizar como para distribuir uniformemente las semillas en profundidad y en el plano horizontal.

- **FERTILIZACIÓN:**

La fertilización depende de la fertilidad del suelo. Sin embargo, varios estudios recomiendan una tasa de aplicación de 60:30:125 kg/ha de N: P: K, respectivamente. Dosis muy altas de nitrógeno incrementan el porcentaje de raíces bifurcadas y deformes, incluso podrían incrementar el contenido de nitratos en las raíces. <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/123456789/6818/>

Macrozona central:

ULTRASOL crecimiento /NPK (25-10-10)

FOSFATO MONOPOTÁSICO /NPK (10-52-34)

FOSFIMAX /PK40-20

KELPAK/ bioestimulante

ULTRASOL PRODUCCIÓN /NPK (13-06-40)

Macrozona sur:

Evaluaciones realizadas por INIA en la Araucanía sugieren entre 150-180 kg de nitrógeno/ha; 180-200 kg de P2O5/ha. y 200-250 kg de K2O/ha. El fósforo y potasio se incorporan antes de la siembra, junto con micronutrientes deficitarios en el suelo, tales como boro, magnesio, manganeso, etc. El nitrógeno aplicado en planta de 10 a 15 cm, en dos parcialidades.

• RIEGO:

En el riego, el cultivo de ZM presenta tres momentos críticos en lo referente al consumo de agua. El primer momento es el período de emergencia en el cual se requieren riegos cortos y frecuentes; se recomienda aplicar riegos cada 3 - 4 días mediante aspersión, hasta la aparición de las dos hojas verdaderas. En la etapa de elongación de la raíz, el riego se realiza por aspersión o goteo, con menores tiempos de aplicación y disminución de la frecuencia de riego de 7 a 10 días con el fin de estimular la elongación de la raíz. En la última etapa de engrosamiento de la raíz se debe aportar agua de forma incremental con el fin de estimular el engrosamiento. Cambios violentos de humedad en el suelo, como cuando se tienen períodos de sequía y abruptamente se aplica abundante agua, causan la partidura de raíces, particularmente cerca de cosecha. Es importante realizar la recolección o cosecha cuando el suelo esté relativamente húmedo para que se facilite el arranque. Se recomienda aplicar unos 10 mm de agua con una frecuencia de 7 días, según fecha de siembra y del tipo de suelo. En siembras tardías hacia inicios de verano, debe aumentarse la frecuencia, con riegos más cortos, así como también en suelos más arenosos, dada su baja retención de humedad.

Macrozona central:

Aspersión o goteo en pre-siembra y post emergencia hasta a una semana antes de cosecha. Los riegos tiempo y frecuencia deben realizarse para mantener capacidad de campo.

Macrozona sur:

Aspersión, en la zona sur a inicios de octubre normalmente el suelo tiene suficiente humedad para germinar, y los riegos deben iniciarse para mantener capacidad de campo.

- **CONTROL MALEZAS:**

El control de malezas en zanahoria comienza con una buena preparación de suelo, seguido con una combinación de uso de cultivadoras entre hileras u otros implementos. En términos del proyecto el control de malezas fue mínimo, no obstante, se detalla un listado de herbicidas comúnmente usados:

Ingrediente activo	Acción	Tipo
Linuro	Hoja ancha y gramíneas	Pre y pos emergencia
Trifluralina	Hoja ancha y gramíneas	Pre siembra incorporado
Aclonifeno	Hoja ancha y gramíneas	Pre y pos emergencia

- **ENFERMEDADES Y PLAGAS:**

El cultivo de ZM es bastante sano. Se recomienda preferir medidas culturales como, utilizar sana, rotación de cultivos, preferir suelos con materia orgánica y buen drenaje. Realizar control de malezas. Evitar el exceso de humedad. Eliminar los restos del cultivo postcosecha A continuación, se listan las principales plagas y enfermedades:

Enfermedad o plaga más frecuente	Ingrediente activo (recomendados para zanahoria autorizados por SAG 2019)
<p><i>Alternaria alternata</i> y <i>Alternaria radicina</i></p> <p>Medidas culturales como, utilizar semilla libre de <i>Alternaria</i>, rotación de cultivos, preferir suelos profundos, con materia orgánica y buen drenaje. Realizar control de malezas. Evitar el exceso de humedad. Eliminar los restos del cultivo postcosecha (Tay y Sepúlveda, 2011).</p>	<p>Azoxystrobin/Difenoconazole Chlorotalonil</p> <p>Aplicaciones al follaje frente a primeros síntomas (clorosis incipiente en los bordes de las hojas). Una vez detectada la enfermedad se deben realizar aplicaciones cada 10-15 días con rotación de productos</p>
<p>Oídio (<i>Erysiphe polygoni</i>)</p> <p>La infección es favorecida por alta humedad relativa y temperaturas entre 13° y 32°C.</p>	<p>Benomil Chlorotalonil</p> <p>Según avance de síntomas que se manifiesta como polvo blanco sobre las hojas</p>
<p>Mosca de la zanahoria. <i>Chamaepsila rosae fabricius</i> (<i>syn Psilla rosae</i>).</p> <p>Medidas culturales como, rotación de cultivos, eliminación de malezas hospederas, eliminar los restos de cultivos de postcosecha.</p>	<p>Imidacloprid Clorpirifos + diazinon</p>
<p>Gusanos del suelo del género <i>Agrostis</i> y gusano alambre</p>	<p>Tratamientos al suelo similares al usado para mosca de la zanahoria</p>

- **RENDIMIENTO:**

- **Macrozona central:**

- 50-60 ton/ha

- **Macrozona sur:**

- 40-50 ton/ha

- **ÍNDICE DE COSECHA PARA COLOR O ANTIOXIDANTES:**

La zanahoria (ZM) como materia prima para la industria del color, busca una raíz tierna, alta en sólidos solubles ($\geq 9^\circ\text{Brix}$), con un punto de color $\geq 0,4$ E1% (valor de absorbancia), bajo contenido de fibra y raicillas secundarias al momento de cosecha. Las zanahorias óptimas para color son aquellas que presentan un mayor porcentaje del floema morado intenso, evitando una xilema descolorido y leñoso y, el cual se asocia a la emisión del tallo floral. El índice de cosecha óptimo para zanahorias de color púrpura está entre 5 a 7, ver <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4909>.

- **COMPUESTOS BIOACTIVOS:** Zanahoria morada es alta en fibra y tiene un alto contenido de antocianinas rojo-púrpura del tipo Cianidina- 3 -diglucosido-5-glucosido. Sus extractos en sus diferentes formatos tienen efectos positivos en la salud, en particular está asociado a un efecto antiinflamatorio debido a su capacidad antioxidante y efectos inhibitorio en la proliferación de células cancerígenas.

Papas de pulpa de color (PPC)

La papa cultivada (*Solanum tuberosum* L.) es ampliamente consumida en el mundo, siendo el cuarto cultivo más importante en el mundo, después del maíz, del trigo, y del arroz (FAOSTAT, 2019). La papa tiene su origen en América del Sur, fue en el siglo XVI que emigró a Europa, dispersándose rápidamente al resto del mundo. Chile es uno de los países con una amplia diversidad de papas, varios estudios de diversidad genética y estructura poblacional de la papa chilena han demostrado la estrecha distancia genética entre las variedades locales de la isla de Chiloé y el grupo moderno de papa cultivada. La descripción morfológica más completa del germoplasma chileno se publicó en 2008 en el Catálogo de Papas Nativas de Chile; entre 589 accesiones nativas analizadas, se encontraron 320 fenotipos alélicos diferentes indicando que existen al menos 320 genotipos diferentes en las colecciones (Muñoz *et al.*, 2016). La diversidad genética contiene atributos genéticos, fisiológicos y bioquímicos invaluable que pueden garantizar nuevos alimentos saludables y una productividad alimentaria global segura. El INIA en conjunto con preservar esa biodiversidad y contribuir a la valorización, también está trabajando en generar nuevos materiales de papas de pulpa de color, con mejores rendimientos en términos de nutrición, concentración de antioxidantes, entre otros atributos.

PPC- propiedades funcionales de interés para el mercado de “salud y bienestar”

La papa cultivada en general es valorada por sus propiedades nutricionales y composición bioquímica, que incluye su almidón, azúcares reductores, azúcares no reductores, proteínas, así como por su contenido de potasio, vitamina C y vitamina B6, entre otros (Peña *et al.*, 2021). Para la papa cultivada común, el color de la pulpa puede variar desde el blanco al amarillo profundo, con niveles de carotenoides totales entre 5 y 10 mg kg⁻¹ peso fresco para papas de pulpa blanca, y por sobre los 100 mg kg⁻¹ peso fresco en papas de pulpa amarilla bien intensa (Tatarowska *et al.*, 2019). Considerando que los alimentos ricos en antioxidantes son más apreciados por el consumidor, las PPC roja a púrpuras morados azules (alto en antocianinas y polifenoles) tienen un alto potencial como alimentos del futuro porque contrarrestaría problemas de salud asociados al siglo XXI (Pino y Vergara, 2021). Lo cual se explica porque varios estudios han asociado a las antocianinas con una reducción de algunos marcadores de inflamación y a un menor riesgo de padecer enfermedades crónicas graves, como obesidad, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Además, un estudio reciente mostró que una dieta suplementada con

antocianinas prevendría o aminoraría la incidencia de enfermedades neurodegenerativas (Mattioli *et al.*, 2020; Ercoli *et al.*, 2021). Si bien, las PPC contienen cantidades relativamente bajas de ácidos fenólicos totales respecto a frutos como el calafate y el maqui, sus flavonoides y extractos muestran una alta actividad de captación de oxígeno en comparación con otros vegetales y son más factible de ser consumidas en diferentes formatos (Mattioli *et al.*, 2020; Ercoli *et al.*, 2021; Pino y Vergara, 2021). Además, el liofilizado de PPC púrpura ayudaría a mejorar los síntomas de la colitis ulcerosa una enfermedad inflamatoria intestinal relevante en algunos países y segmento de la población (Li *et al.*, 2020). En la **Figura 5.7** se muestran subproductos derivados de PPC morada, generadas por INIA durante los últimos años, como colorantes, almidón, flakes y liofilizados.



Figura 5.7. Papas de pulpa de color (PPC) morada (INIA RQ12-521): extracto para color en formato líquido (65°Brix), flakes, liofilizado, extracto para color en formato polvo (secado por atomización) y almidón (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

PPC - características como colorante y antioxidante en Chile

Un estudio INIA en tres líneas de PPC desarrolladas para el mercado de la industria de alimentos (**Tabla 5.8** y **Figura 5.8**) mostraron valores interesantes en antocianinas totales (AT), en actividad antioxidante (FRAP) y en polifenoles totales (PFT)

Tabla 5.8. Características de tres líneas de papas PPC para color e industria de alimentos, entre las temporadas 2014- 2015 a 2017-2018.

Fuente: adaptado de Pino y Vergara (2021).

Líneas INIA PPC	Color piel	Color pulpa	Forma tubérculo	Materia seca (%)	Punto de color (E1%)	AT mg C3G/kg peso fresco
INIA RS58-3	RF	RF	Redonda	23,06	0,15 b	1162,4 b
INIA RQ12-521	MF	MS	Ovalada	25,03	0,07 a	600,7 a
INIA RÑ98-9	MF	MF	Redonda	24,53	0,20 c	1316,9 b
			<i>CV</i>	14,6%	9,1%	15,5%
			<i>p-value línea</i>	NS	<0,0001	<0,0001
			<i>p-value año</i>	0,013	<0,0001	<0,0001
			<i>p-value Línea*año</i>	NS	<0,0001	0,0004

Donde, RF= rojo fuerte, MF= morado fuerte o azulado, MS= morado suave. La intensidad de color se expresa como punto de **color (E1%)** y corresponde al valor del coeficiente de extinción de una solución coloreada al 1% y longitud de onda de máxima absorbancia (INIA RÑ98-9: Abs=522 nm, INIA RQ12-521: Abs=521 y RS58-3: Abs=506 nm) en Espectrofotómetro (Jasco V-700). **Antocianinas Totales (AT)** se determinó por el método de pH-diferencial en base equivalentes de cianidina-3-glucósido (C3G), por peso fruto fresco (espectrofotómetro Jasco V-700). Letras diferentes indican diferencias significativas entre columnas ($p < 0,05$); se analizaron tres muestras metodológicas (con tres mediciones instrumentales por repetición). El análisis estadístico incluyó ANDEVA y test de Tukey $p < 0,05$ (InfoStat versión 2020. <http://www.infostat.com.ar>).



Figura 5.8. Líneas de papas de pulpa de color desarrolladas por INIA, PPC roja (INIA RS58-3), PPC morada (INIA RQ12-521), PPC morada azulada (INIA RÑ98-9), para Food Coloring e industria de alimentos (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

surgiendo como una nueva alternativa para distintas aplicaciones en alimentos. La línea de PPC-morada, más destacadas fue INIA RÑ98-9 por su color morado-azulado e intensidad de color (0,25- 0,36 E1%), su rendimiento en campo fue cercano a las 50 ton/ha. Por otra parte, PPC-morada INIA RQ12-521 destacó por su color morado menos intenso, menor intensidad de color entre 0,09 -0,11 E1%, pero mayor rendimiento en campo superando las 80 ton/ha. Respecto a la PPC roja INIA RS58-3, destacó por su pulpa roja e intensidad de color entre 0,16 y 0,24 E1%, su rendimiento promedio en campo estuvo cerca de las 52 ton/ha. Es importante destacar, que estos rendimientos de campo pueden aumentar en la medida que se ajuste el paquete agronómico en términos de fertilidad y riego.

En la **Figura 5.9**, se muestra el análisis de componentes principales (ACP) para color, actividad antioxidante y características industriales, tanto para las tres líneas de PPC (INIA RS58-3, RQ12-521, RÑ98-9) como para tres regiones (Los Lagos, La Araucanía y Metropolitana), entre 2018 y 2021. Los resultados mostraron una asociación

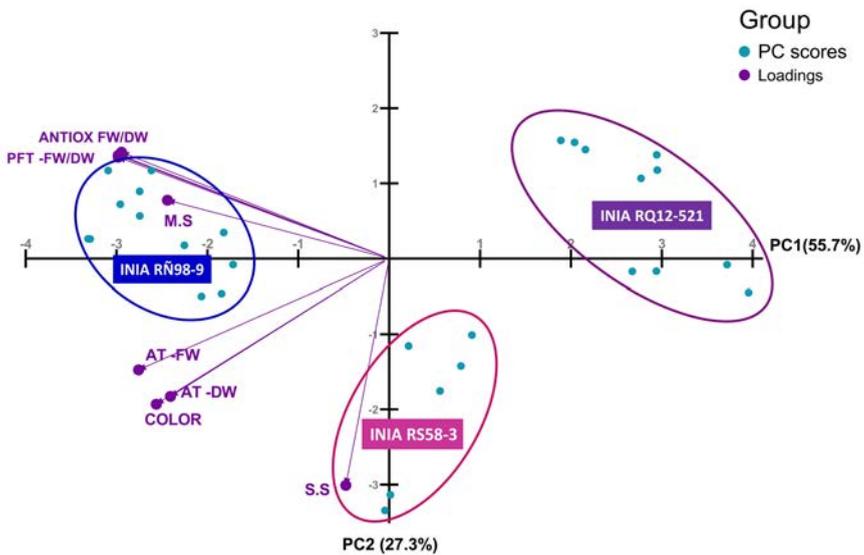


Figura 5.9. Análisis de componentes principales (ACP) para tres líneas de papas de PPC (INIA RS58-3, RQ12-521, RÑ98-9) en tres localidades (Los Lagos (Osorno), La Araucanía (Teodoro Schmidt), Metropolitana (María Pinto)) entre las temporadas 2018 a 2021. Donde, ACP incluyó M.S. (%), S.S.(BRIX), Color (E1%), AT, PFT y actividad antioxidante (ANTIOX o FRAP). **AT**, antocianinas totales se determinaron por pH-diferencial como equivalentes de Cianidina-3-Glucosido mg C3G/peso (espectrofotómetro Jasco V-700). **PFT**, polifenoles totales por Folin-Ciocalteu como mg EAG/peso. **ANTIOX**, según FRAP como μ moles Trolox/peso. Tanto AT, como PFT y ANTIOX se determinaron en base a peso fresco (FW) y peso seco (DW). ACP y matriz de correlaciones se analizaron con el Programa GraphPad Prism versión 9.3.0.

altamente positiva (>0,96) entre actividad antioxidante (ANTIOX) y los polifenoles totales (PFT) tanto en peso fresco como en peso seco (producto liofilizado), lo cual demuestra que tanto los ANTIOX como los PFT se mantienen en papa liofilizada. También, se observó una asociación positiva (>0,6) entre los PFT y AT. El color y las AT en base a peso fresco o peso seco (liofilizado) estuvieron altamente asociadas, 0,9 y 0,84 respectivamente. Las líneas de PPC se agruparon en clústeres distintos en función de las características evaluadas [M.S (%), S.S.(BRIX), Color (E1%), AT, PFT y ANTIOX (o FRAP)], fue la línea INIA RÑ98-9 la que más se alineó con este comportamiento y la línea RQ12-521 la más alejada.

Respecto al perfil de antocianinas en PPC, particularmente en la PPC roja (INIA RS58-3) destacan aquellas antocianinas más cercanas al color rojo púrpura como las del grupo de las cianidinas, peonidinas, delphinidinas. Para las PPC moradas (INIA RQ12-521 y INIA RÑ98-9) destacan antocianinas del grupo petunidinas, y malvidinas. Sin embargo, se expresa casi todo el espectro de antocianinas y las diferencias están dadas por los peaks y tiempo de retención (**Tabla 5.9**). Pino y Vergara (2021), encontraron publicaciones que validaron sus resultados; así, un estudio en cuatro cultivares de papa (“Hermanns Blaue”, “Highland Burgundy Red”, “Shetland Black” y “Vitelotte”) identificó principalmente antocianinas del grupo de las petunidina en las papas rojas púrpuras, mientras malvidina fue predominantemente detectada

Tabla 5.9. Perfil de antocianinas para PPC roja (INIA RS58-3), morada (INIA RQ12-521), morada azulada (INIA RÑ98-9) cultivada en Osorno (40°34'26.22"S, 73°8'0.53"W.) Chile, entre las temporadas 2019-2020 y 2020-2021.
Fuente: adaptado de Pino y Vergara, (2021).

Línea PPC	Color piel	Color pulpa	Forma tubérculo	Perfil de Antocianinas (predominante)
INIA RS58-3	RF	RF	Rd	Pelargonidina-3-glucósido, Peonidina-3-glucósido, Delphinidina 3-galactósido
INIA RQ12-521	MF	MS	O	Peonidina-3-arabinósido, Delphinidina 3-glucósido, Delphinidina 3-galactósido, Delphinidina 3-rutinósido, Malvidina-3-glucósido
INIA RÑ98-9	MF	MF	Rd	Peonidina-3-arabinósido, Delphinidina-3,5-diglucósido, Delphinidina 3-galactósido, Delphinidina 3-glucósido, Delphinidina 3-rutinósido, Malvidina-3,5-diglucósido

Donde, RF= rojo fuerte, MF= morado fuerte o azulado, MS= morado suave. Forma de tubérculo Rd = Redondo, O = Ovalado. El perfil de antocianinas de determinó por análisis de HPLC se llevó a en un Jasco Intelligent Quaternary Gradient PumpPU-2089 Plus, UV/VIS detector e interface LC-NetII/ADC, C18 Kromasil 100-5 de 150 mm at 30C°. Detection: UV @ 520nm.

en los cultivares “Vitelotte” (Eichhorn y Winterhalter, 2005). Otro estudio en diez cultivares de papa de colores (rojos y morados), mostró que las antocianinas más destacadas fueron pelargonidina, peonidina y malvidina; todas mostraron actividad antioxidante y antitumoral, sin efectos tóxicos (Sampaio *et al.*, 2021a). Otro estudio reciente, en tres PPC roja, tres de PPC púrpura y una PPC morada, mostró que en PPC rojas y púrpuras son más abundantes las antocianinas del grupo de las pelargonidinas y petunidinas. Asimismo, sus extractos acuosos mostraron actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica *in vitro*, y ningún efecto tóxico (Sampaio *et al.*, 2021b). Además, la PPC-roja (INIA RS58-3) destaca por su alta concentración de antocianinas del tipo rojas y su potencial para reemplazar los rojos sintéticos.

Varios estudios demuestran que la mayoría de los procesos a los cuales son sometidas la PPC, ya sea para obtener flakes, fritura, u otros subproductos, necesariamente significan pérdidas de antocianinas y polifenoles (excepto el liofilizado); en este contexto la microencapsulación surge como una alternativa para lograr la estabilidad del color y la integridad de las antocianinas. Un estudio de INIA separó el almidón del color en PPC, con el fin de estudiar la estabilidad del color, confirmar su potencial como una colorante natural y como fuente tanto de antioxidantes como polifenoles. Los detalles de este trabajo de extracción y estabilización de las antocianinas se discuten en el capítulo 4 de esta publicación y en Vergara *et al.*, (2020). Básicamente, se logró demostrar que la microencapsulación es una estrategia que permite la protección a las antocianinas extraídas de las PPC tanto en condiciones de almacenamiento acelerada (60°C y 20% HR), como en un modelo de digestión simulada (Vergara *et al.*, 2020). Confirmando, que la microencapsulación es una alternativa para reducir la pérdida y degradación tanto de antocianinas como de polifenoles extraídos de las PPC.

Productos desarrollados en base a PPC en Chile

Si bien es cierto, en PPC morada la actividad antioxidante no es tan alta como lo es en el calafate ni en la zanahoria morada. La PPC es interesante porque es un cultivo ampliamente aceptado a nivel mundial, podría ser cultivado ampliamente, y podría tener un costo menor por kilo respecto al maqui o calafate. Se puede, además extraer ingredientes y aditivos naturales, como colorantes en formato líquido y en formato polvo soluble mediante secado por atomización. También, se podría comercializar liofilizada como un antioxidante en formato polvo, o deshidratadas en flakes. Los flakes de PPC son recomendados para fortificación de harinas, alimentos infantiles, sopas y productos extruidos. En la **Tabla 5.10** y **Figuras 5.10 a 5.13**, se detallan algunos productos desarrollados que permite agregar valor y diversificar las PPC.

Tabla 5.10. Resumen del portafolio de ingredientes y productos desarrollado en base a papa pulpa de color (PPC) en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

Producto del Portafolio	Etapa
Flakes de PPC moradas y roja. Uso: Food Coloring, fortificación de harinas, alimentos infantiles, sopas y productos extruidos	Producto etapa pre-comercial Resolución sanitaria, HACCP, ISO
Liofilizados de PPC para ingrediente. Uso: Food Coloring, harinas libres de gluten	Producto etapa pre-comercial Resolución sanitaria, HACCP, Kosher
Extracto para color de PPC morada roja sin almidón en formato líquido y estabilizado para colorante. Uso: colorante natural	Productos en desarrollo etapa piloto laboratorio
Encapsulados de papa morada. Uso: colorante natural, Food Coloring, otros	Producto en evaluación técnica
Papas para snacks fritos- horneados. Uso: snacks saludables	Producto etapa pre-comercial y comercial. Resolución sanitaria



Figura 5.10. Flakes elaborados a partir de papas desarrolladas por el INIA, desde: PPC morada INIA RQ12-521 (A), PPC roja INIA RS58-3 (B), PPC morada-azulada INIA RÑ98-9 (C), desarrollados con DianaFood Chile en ambiente real con Resolución sanitaria, HACCP, ISO (D) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).



Figura 5.11. Extractos de papas de pulpa de color en formato polvo: PPC roja INIA RS58-3 (A), PPC morada INIA RQ12-521 (B), PPC morada-azulada INIA RÑ98-9 (C), producto desarrollado en ambiente real a través de Nativ for Life (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

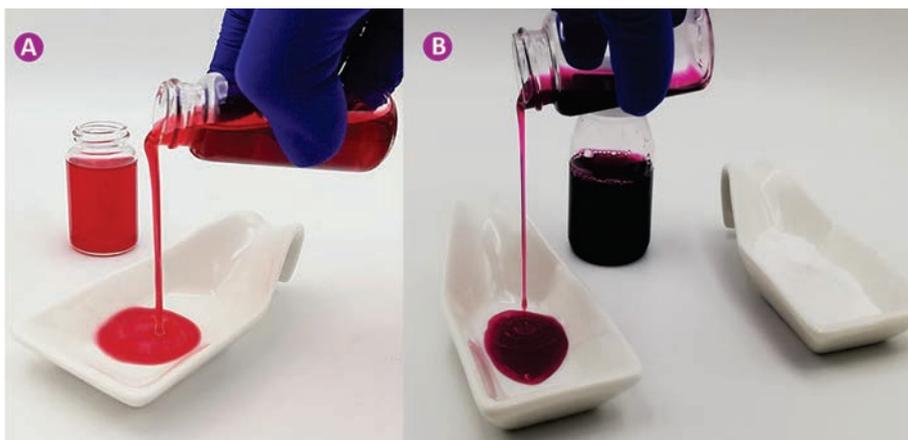


Figura 5.12. Extractos de papas de pulpa de color en formato líquido, concentrado (65°Brix), libre de almidón y estabilizado para colorante natural, este producto se debe almacenar a -18°C : PPC roja INIA RS58-3 (A). PPC morada INIA RQ12-521 (B) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).



Figura 5.13. Snacks fritos-horneados de papa, PPC morada INIA RQ12-521 (A) y PPC roja INIA RS58-3 (B). Fuente: POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

Ficha técnica agronómica para la papa de pulpa de color (PPC)

La papa (*Solanum tuberosum* L.) de pulpa de color (PPC) se puede cultivar en zonas geográficas similares a la papa cultivada común, su periodo vegetativo fluctúa entre los 130 a 150 días, tendiendo a ser levemente más corto en la zona central. En general, el cultivo de papa se desarrolla en forma óptima con temperaturas entre 14°C y 22°C, mientras temperaturas sobre 30°C en los primeros 90 días producen un cambio en la acumulación de biomasa, expresado en mayor biomasa aérea, menor biomasa a nivel tubérculos y un menor índice de cosecha. PPC al igual otras variedades, son sensibles a temperaturas inferiores a -2.5°C, sufriendo daños por heladas a nivel foliar y baja en los rendimientos. En términos de ensayos para la industria de Food Coloring ha sido evaluadas entre las regiones Metropolitana a Osorno, con buenos rendimientos y características industriales (**Figura 5.14**), lo cual permitiría tener una producción escalonada para industria de alimentos. En la zona central la PPC roja tiende a alcanzar su punto de cosecha óptima unos 10 a 15 días antes que las PPC moradas (**Figura 5.14A**).

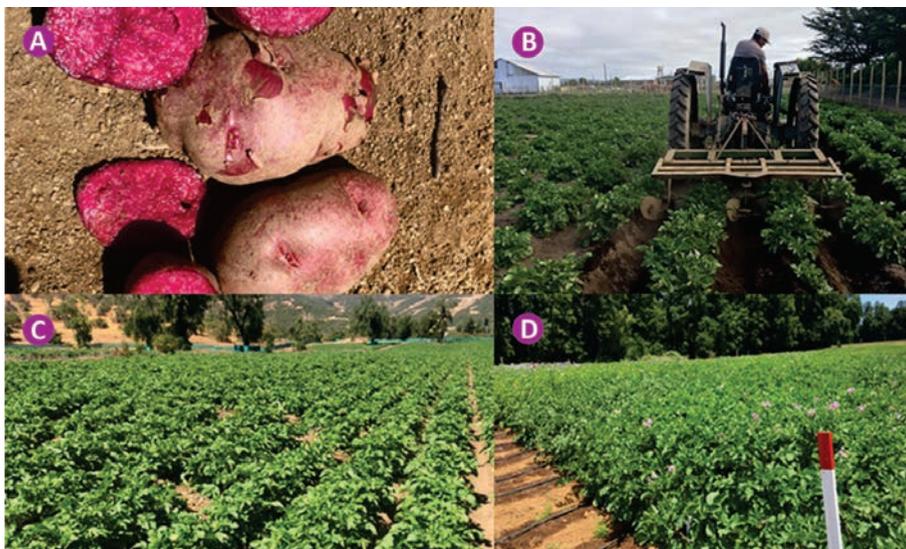


Figura 5.14. Cultivo de papas de pulpa de color (PPC) en diferentes regiones de Chile para ensayos experimentales para la industria de alimentos: PPC roja RS58-3 en la R.M. (A), ensayos en la región de la Araucanía (B), ensayos en María Pinto R.M. (C), ensayos en Osorno (D). Fuente: POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

FICHA TÉCNICA PAPA DE PULPA DE COLOR (PPC)

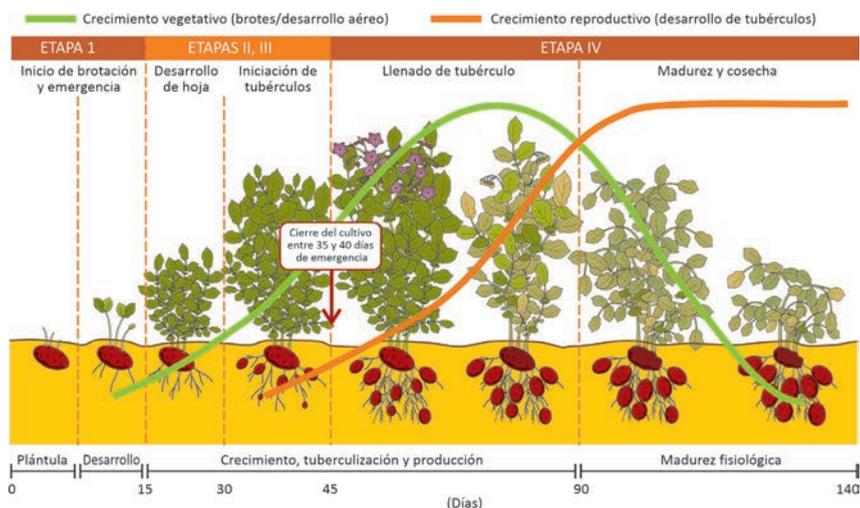
• **ESPECIE:** PAPA CULTIVADA DE PULPA DE COLOR (*Solanum tuberosum* L.)

• **VARIETADES:** Roja (INIA RS58-3), Morada (INIA RQ12-521), Morada azulada (INIA RÑ98-9)

• **LARGO DEL CULTIVO:** 130-150 días

• CICLO DEL CULTIVO:

La papa (*Solanum tuberosum* L.) se cultiva en una amplitud de condiciones ambientales (temperatura, precipitación, fotoperiodo y tipos de suelos). El ciclo del cultivo de estas papas de pulpa de color (PPC) está entre los 130 a 140 días. En general, el cultivo de papa se desarrolla en forma óptima con temperaturas entre 14 y 22°C, mientras las temperaturas mínima, óptima y máxima de germinación son 7°C, 18-24°C, y 30°C, respectivamente. Temperaturas sobre 30°C producen un cambio en la acumulación de biomasa, expresado en un menor índice de cosecha, mayor biomasa aérea y menor biomasa a nivel tubérculos. PPC al igual otras variedades, son sensibles a temperaturas inferiores a -2.5°C, sufren daños a nivel foliar y bajas en los rendimientos.



Principales etapas del cultivo de la papa (adaptado de Pino *et al.*, 2016).

- **FECHAS DE PLANTACIÓN A COSECHA:**

Macrozona central:

Agosto a enero, Octubre a marzo.

Macrozona sur:

Octubre a marzo

- **SUELO Y DENSIDAD DE PLANTACIÓN:**

(3000- 4000kg papa-semilla/ha).

Los tubérculos-semillas deben ser de buena calidad, sanos, y corresponder a semilla legal (certificada o corriente), especialmente si se cultiva en el área libre de plagas cuarentenarias (desde la Provincia de Arauco al extremo sur).. El estado fisiológico de los tubérculos-semillas tiene una gran influencia en la brotación, emergencia, crecimiento y rendimiento del cultivo. La plantación se realiza en áreas y épocas donde el riesgo de heladas es mínimo. Además, la época de plantación está determinada por la temperatura de suelo, la cual debe estar por sobre 7°C para que haya brotación y emergencia del cultivo. La profundidad de siembra es 7-8 cm, profundidades mayores retardan la emergencia y las superficiales incrementan el riesgo de enverdecimiento. La plantación se puede realizar manual o mecanizada mediante plantadoras automáticas. Distancia entre los surcos 0,7 m, y sobre entre 0,3-0,4 para la zona sur, y entre 0,75 a 0,90m en la zona sur.

- **FERTILIZACIÓN:**

La fertilización depende de la fertilidad del suelo, y análisis de suelo. Se debe aplicar a lo menos los nutrientes primarios: nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). La fertilización normalmente se hace toda al momento de la plantación, especialmente cuando los rendimientos esperados no son muy altos; esto es, menos de 50 ton/ha.

Macrozona central:

N 120-130 U/ha, P 180 U/ha, K 170-200 U/ha.

Macrozona sur:

N 120 U/ha, P 350 U/ha, K 200 U/ha

- **RIEGO:**

Requerimiento hídrico se ha estimado que un cultivar de papa de 120 a 150 días consume entre 500 y 700 mm de agua, dependiendo de las condiciones climáticas. Un momento clave para mantener a capacidad de campo, durante el llenado de los tubérculos, por lo cual en esa etapa no puede faltar el riego, por otra parte, el riego debe cortarse antes de la cosecha.

Macrozona central:

Aspersión o goteo, en la zona central se ha estimado requerimientos entre 600- 700mm de agua, dependiendo del suelo y clima. Los tiempo y frecuencia de riego deben realizarse para mantener capacidad de campo durante toda la temporada, particularmente durante el llenado de tubérculos. Sin embargo, se debe evitar sobre regar.

Macrozona sur:

Surco, aspersión o goteo, en la zona sur en la plantación, a inicios de octubre, normalmente el suelo tiene suficiente humedad para brotar, y los riegos deben iniciarse para mantener capacidad de campo desde inicio de la tuberización. En la zona de la Araucanía se ha estimado requerimientos entre 450 y 550mm de agua.

- **CONTROL MALEZAS:**

De preferencia se controlan con tratamientos pre-emergentes o después de sembrar, haciendo la aporca definitiva y aplicando herbicidas alrededor de 5 días pre-emergencia. La aporca definitiva busca controlar malezas, soltar el suelo o conservar humedad, se realiza cuando las plantas tienen de 25 a 30 cm de alto. Los principales inconvenientes es el daño en las raíces cuando la labor se realiza tarde, con plantas de más de 30 cm de altura. También existen alternativas de herbicidas, la mayoría recomendados pueden aplicarse en pre-emergencia del cultivo y las malezas, pero sólo metribuzina (Sencor 480 SC; Bectra 48 SC) y rimsulfuron (Matrix), pueden aplicarse en pre y pos-emergencia.

- **ENFERMEDADES Y PLAGAS:**

El uso de semilla certificada y la rotación de cultivo es esencial para disminuir la incidencia de enfermedades. En la zona central no se observó incidencia de patógenos durante el cultivo en terreno. Sólo se observó problemas postcosecha en algunos agricultores por mal almacenaje. Sin embargo, como la PPC se vende para proceso, este no sería un problema.

- **RENDIMIENTO:**

Macrozona central:

PPC Morada INIA RQ12-521=80Ton/ha,

PPC Morada-azulada INIA RÑ98-9=50Ton/ha,

PPC Roja INIA RS58-3=70Ton/ha

Macrozona sur:

PPC Morada INIA RQ12-521=90Ton/ha, PPC Morada-azul RÑ98-94=60 Ton/ha, PPC Roja RS58-3=70Ton/ha

- **ÍNDICE DE COSECHA PARA COLOR O ANTIOXIDANTES:**

Se debe cosechar con una humedad relativa baja, porque la cosechadora no es capaz de separar el suelo de los tubérculos. La sensibilidad al daño y al golpe aumenta seriamente con temperaturas de suelo <8°C. En suelos sensibles a la formación de terrones muy duros y angulosos, no conviene cosechar bajo condiciones muy secas. Se recomienda regar con anterioridad al inicio de la cosecha, y evitar que estos dañen a las papas. La cosecha debe realizarse con buen clima, para que los tubérculos permanezcan al aire en terreno hasta disminuir la humedad superficial, facilitar el secado y eliminar el suelo adherido. La recolección debe evitar exceso de golpes o daños. Para color la cosecha de la PPC roja se debe realizar 10 días antes que la morada (130 días). Mientras la PPC morada debe evitar sobre madurez y que engrose demasiada la piel porque afecta el color.

- **ALMACENAJE:**

Para la industria de ingredientes, lo ideal es procesar las papas (PPC) rápidamente después de la cosecha. Si no fuera así, se deben cumplir las siguientes etapas:

Preselección para almacenaje y secado: Una vez realizada la cosecha, se deben eliminar los tubérculos con cortes, partidos, con pudriciones y escarchados. Almacenar sólo papas secas, limpias y sanas.

Curado: En este período de cicatrización, los tubérculos producen nuevos estratos de piel sobre las heridas que ocurren durante la cosecha. El curado es más efectivo a temperaturas de 12-16°C, alta humedad relativa (90-95%) y ventilación. La cicatrización y suberización es lenta a bajas temperaturas, por lo cual se debe realizar previamente al enfriado.

Enfriamiento: La temperatura óptima dependerá del uso, de 4-10°C para papa consumo y de 4°C para papa semilla. Sino se cuenta con una bodega refrigerada, entonces la temperatura dependerá de la construcción y ubicación de ésta. Lo importante es que la temperatura no baje de los 0°C, porque los tubérculos son susceptibles a heladas y las bajas temperaturas aumentan la respiración.

Mantención: En esta etapa los tubérculos tienen baja respiración y están dormantes. Termina con el inicio de brotación (para los tubérculos destinados a semilla).

Acondicionamiento o elevamiento de temperatura: Esta etapa es relevante en papa-semilla. La temperatura se debe aumentar lentamente para evitar el daño al manipular tubérculos fríos y estimular la brotación en tubérculos destinados a semilla. Es esencial evitar las mezclas y mantener las variedades diferenciadas (asegurando de esta forma la identidad varietal). Es importante, preservar la calidad sanitaria y fisiológica del tubérculo. Esta última afecta el número y vigor de los brotes y tallos, por consecuencia, el crecimiento y rendimiento potencial de las plantas.

Camote

El camote (*Ipomoea batatas* Lam), es una raíz de alto valor nutricional e importancia económica, conocido en otros países de lengua hispana como batata, boniato, o patata dulce y en inglés como sweet potato. Históricamente es considerado una fuente de alimento básico para muchas poblaciones oriundas de América Central y Sur, de la isla Ryukyu, de África, del pueblo maorí, de los hawaianos y de Papúa Nueva Guinea. El primer centro de origen es Mesoamérica, desde la península de Yucatán en México hasta la desembocadura del río Orinoco en Sudamérica (Linares *et al.*, 2008). Restos arqueológicos de camote encontrado en el yacimiento de Huaynuma del valle de Casma de la costa peruana datan de los 2000 años antes de Cristo, demostrando que esta raíz fue parte de la dieta de esa cultura desde tiempo ancestrales (Bonavía, 1984). La Polinesia es considerada como un centro secundario de diversidad genética para esta especie, porque allí crece en forma silvestre, y en culturas como la hawaiana es conocido como “Uala”, el cual tiene una connotación sagrada (Yañez, 2002).

El camote es una especie herbácea, y aunque se cultiva como un cultivo anual es una planta perenne, con hábito de crecimiento erecto, semi-erecto, y rastrero. Sus hojas varían ampliamente en tamaño y forma, pueden ser elípticas, ovals a lanceoladas, de color verde a moradas, con márgenes enteros o dentados de ápice agudo. Su sistema radicular se caracteriza por estar compuesto de raíces lignificadas y raíces que forman órganos de reserva produciendo falsos tubérculos de formas y colores variados (Cusumano y Zamudio 2013). Las raíces reservantes varían en forma y tamaño según el cultivar y tipo de suelo donde se siembren. El color de la piel puede variar desde crema hasta anaranjado pasando por el amarillo, también desde rosado hasta el rojizo a morado intenso. El color de la pulpa puede ser blanco, crema, amarillo, anaranjado o morado. El peso puede variar desde 200–300 gramos hasta 6 kilogramos (Cusumano y Zamudio 2013; Pino *et al.*, 2017).

Propiedades funcionales de interés del Camote para el mercado de “salud y bienestar”

El camote se destina a la alimentación humana y animal como consumo fresco, y en productos elaborados. El camote de pulpa anaranjada es una fuente importante de betacaroteno, precursor de la vitamina A. Tan solo 125 gramos de camote fresco de las variedades de camote más anaranjadas contienen suficiente betacaroteno para aportar la provitamina A que requiere diariamente un preescolar,

según lo indica el Centro Internacional de la Papa (CIP, <https://cipotato.org/es/sweetpotato/>). El camote también aporta vitaminas B6, C, y E. El consumo de camote se asocia a un efecto cardioprotector porque los antioxidantes como la vitamina C y los fenoles totales mejorarían los biomarcadores que reducen los riesgos de enfermedad cardiovascular, también el camote beneficiaría el corazón porque la vitamina B ayudaría a prevenir el endurecimiento de las arterias y otros vasos sanguíneos (García-Méndez, 2016). El sabor dulce del camote está dado por azúcares simples; principalmente por sacarosa, seguido de la fructosa y glucosa (Marti *et al.*, 2011).

Camote Naranja – características como colorante y antioxidante en Chile

Las variedades de camote de pulpa anaranjada (CN) son altas en betacaroteno, una provitamina que se convierte en vitamina A en el cuerpo humano. La deficiencia de vitamina A se asocia con problemas a la vista o función ocular deficiente que se agudiza con la edad, especialmente entre grupos de bajos ingresos de la población (Hampwaye *et al.*, 2016). El CN contiene β -caroteno-5,8,50,80-diepóxido, β -caroteno-5,8-epóxido e ipomoeaxantina A, además de β -caroteno, mientras las capacidades antioxidantes en este cultivo se atribuyen a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, β -caroteno, y derivados del ácido cafeoilquínico (Rumbaoa *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2016). En términos de la concentración de carotenoides, los genotipos 2017N fue uno de los más destacados, con valores de β -carotenos totales entre 95,0 μ g/g peso fresco de raíz (Pino *et al.*, 2017). Respecto al extracto líquido mostrado en la **Figura 5.15c**, los carotenoides totales alcanzaron los 150 μ g betacaroteno/g de extracto líquido concentrado a 65°Brix.

Productos desarrollados en base a camote naranja en Chile

El camote naranja puede ser procesado para obtener ingredientes y aditivos naturales, como colorante en formatos líquido y polvo, como Food Coloring en flakes o en polvo (liofilizado o deshidratado) como fuente de betacarotenos y libre de gluten para fortificación de harinas, alimentos infantiles, sopas y productos extruidos, o en snacks (ver **Tabla 5.11** y **Figura 5.16**). También se puede encontrar en el mercado almidón de camote, glucosa de camote, alcohol y jarabes de camote.

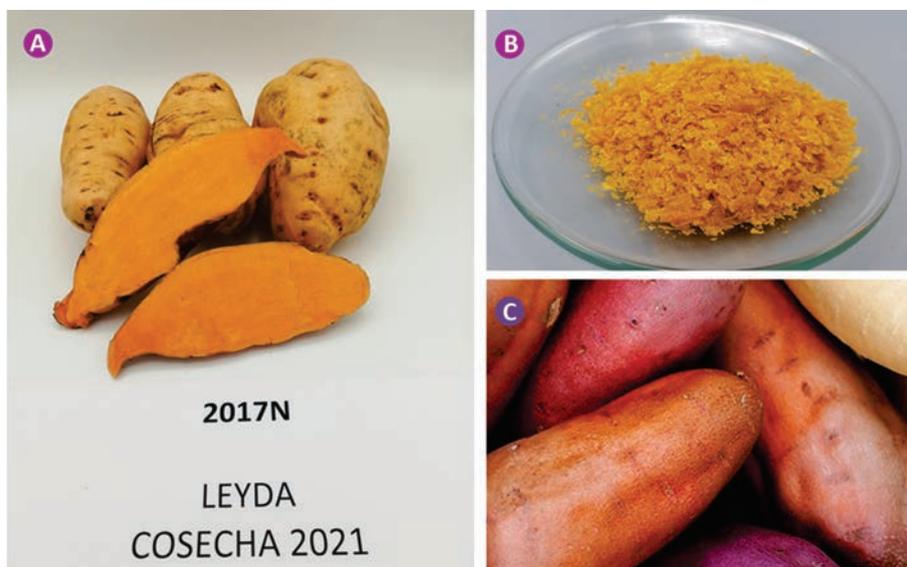


Figura 5.15. Camote naranja cosechado en la localidad de Leyda en la región de Valparaíso (Agrícola Las Palmas, asociación de agricultores de San Antonio) (A), flakes de camote naranja desarrollados en conjunto con empresa DianaFood Chile (B), diversidad de colores de camotes (C) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Tabla 5.11. Resumen del portafolio de ingredientes y productos desarrollado en base a camote naranja en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

Producto del Portafolio	Etapa
Flakes de camote naranja Uso: Food Coloring, alto en β-carotenos para fortificación de harinas, alimentos infantiles, sopas y productos extruidos.	Producto PMV, etapa pre-comercial Desarrollado con DianaFood co-n Resolución sanitaria, HACCP, ISO
Liofilizado camote naranja Uso: Food Coloring y libre de gluten	Producto etapa pre-comercial
Extracto de camote naranja en formato líquido sin almidón estabilizado. Uso: colorante natural	Producto en desarrollo



Figura 5.16. Productos elaborados a partir de Camote Naranja cosechado en la localidad de Leyda en la región de Valparaíso (Sociedad Agrícola Las Palmas, asociación de agricultores de San Antonio): flakes (A), polvo liofilizado (B) y Extracto alto en betacarotenos en formato liquido (65°Brix) sin almidón y estabilizado (C) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

El polvo liofilizado, primero se desarrolló a escala piloto (en el laboratorio de alimentos de INIA La Platina UMPA) a partir de camotes en estado fresco obtenidos en Buin (R.M.) y en Leyda (región de Valparaíso). Luego se validó y escaló a un producto mínimo viable (PMV) en una planta de proceso con resolución sanitaria (con la empresa Native for Life). Los extractos de camote naranja sin almidón, estabilizado para colorante natural, se desarrollaron a escala piloto (en el laboratorio de alimentos de INIA La Platina UMPA) a partir de camotes en estado fresco.

Ficha técnica agronómica del camote naranja

El camote se cultiva en climas subtropicales a templados con altas temperaturas y humedad relativa (75% a 85%). Las temperaturas óptimas para su cultivo comercial fluctúan entre 20°C a 30°C, temperaturas inferiores a 15°C detienen el desarrollo de la planta. El camote no tolera heladas porque temperaturas <0°C destruyen las plantas, y en las últimas fases de crecimiento causan "Cracking" en su raíz. El período vegetativo dura entre

120 a 150 días dependiendo del cultivar, pero con bajas temperaturas su ciclo se extiende por sobre 130 días (Lardizábal, 2003). En Chile continental, se puede cultivar bien entre las regiones de Coquimbo y O'Higgins mientras no existan restricción hídrica. En la medida que el cultivo se desplace hacia el sur, el periodo desarrollo será más corto, disminuyendo en rendimiento y calidad, mientras las últimas heladas de primavera retrasarán su establecimiento, las primeras heladas de otoño dañarán la planta y su raíz. La densidad de plantación puede variar entre 20.000 a 30.000 plantas por hectárea, INIA recomienda una densidad de 30.000 plantas por hectárea, para superar los rendimientos de 40 ton/ha. El camote se propaga principalmente vía vegetativa, utilizando plántulas y esquejes. En la zona central de Chile, el trasplante se debe realizar después de la última helada, entre los meses de octubre a noviembre. En cuanto más temprana se realice la plantación, mayor será el rendimiento y mejor su calidad. En la medida que no exista incidencia de heladas (Pino et al., 2017).



Figura 5.17. Camote naranja explantes de camotes propagados *in vitro* en laboratorio INIA (A), esquejes enraizados (B), camote bajo riego por goteo establecidos en productor de María Pinto R.M. (C) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

FICHA TÉCNICA CAMOTE (CN)

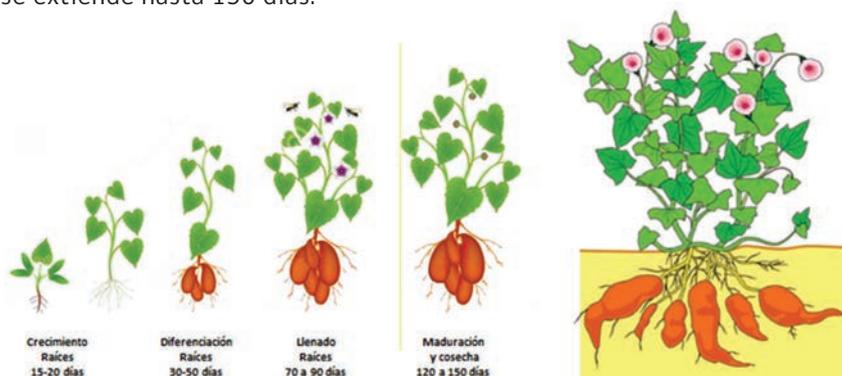
- **ESPECIE:** CAMOTE DE PULPA DE COLOR NARANJA (*Ipomoea batatas* L.)

- **VARIEDADES:** 2014N, 2017N (clones)

- **LARGO DEL CULTIVO:** 140-150 días

- **CICLO DEL CULTIVO:**

El Camote (*Ipomoea batatas* Lam.) batata dulce o boniato es de origen tropical, se cultiva en clima tropical y subtropical a templado. Es una especie es muy sensible a las heladas. Estos clones se desarrollan bien en la zona central de Chile con temperaturas sobre 15°C, lo óptimo son temperaturas cálidas entre 20 o y 30°C, a menores temperatura el ciclo se extiende hasta 150 días.



Principales estados de desarrollo del cultivo camote

- **FECHAS DE PLANTACIÓN A COSECHA:**

Macrozona central:

Octubre - abril

Macrozona sur:

No se produce.

- **SUELO Y DENSIDAD DE PLANTACION**

25.000- 35.000 plantas /ha.

Los esquejes y plántulas se deben trasplantar después de la última helada, en la zona central de Chile durante el mes de octubre. En cuanto más

temprana se realice la plantación mayor será el rendimiento, logrando mejor forma y calidad. Los plantines se comiendan ser trasplantados aproximadamente cuando tienen una altura de 15- 20 cm, con a lo menos 6 verdaderas. El camote crece bien en suelos de textura franco-arenoso a franco arcilloso, con una profundidad de 20 a 60 cm, con niveles de materia orgánica media, pH entre 5,5 y 7,5, tolera la sequía, pero no soporta el exceso de humedad por lo cual el suelo debe tener buen drenaje, en cuanto a la salinidad el camote es poco tolerante a conductividad eléctrica superior a 4 ds/m Para riego por goteo existe la opción de plantar en mesas de 1,2 m, con una distancia sobre la hilera 25 cm y una sola hilera sobre la cama. Se recomienda plantar en mesa de 1,5 m, con dos hileras sobre la mesa y separadas a 40 o 50 cm entre sí y con 25 cm sobre las hileras individuales, este último permite optimizar el riego.

Densidad de plantación camotes con riego por goteo Zona central

Sistema de plantación	Distancia		Plantas/ha
	sobre hilera	entre hilera	
Mesa 1.2m (1 hilera x mesa con una cinta de riego)	0,25 m	1,2 m	33.333
Mesa de 1.5m (2 hileras x mesa con una cinta de riego)	0,3 m	0,4 - 0,5m	44.000

• FERTILIZACIÓN:

Los requerimientos de fertilización dependen del tipo de suelo y su disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, este cultivo responde bien a niveles de 70 a 120 kg/ha de N, 90 a 160 kg/ha de P₂O₅, y 200 a 350 kg/ha de K₂O.

Nutrientes extraídos por tonelada de camote producida para un rendimiento de 25 toneladas por hectárea

	N (kg/ha)	P ₂ O ₅ (kg/ha)	K ₂ O (kg/ha)
Raíces	63	39	129
Follaje	124	48	270
TOTAL	187	87	399

Macrozona central:

N= 120kg/ha P₂O₅=180 kg/ha KCl=170 kg/ha

- **RIEGO:**

El cultivo tiene dos períodos críticos que son los primeros y los últimos 40 días de su ciclo en los cuales se debe mantener capacidad de campo. Al inicio del trasplante se debe regar el suelo, y durante los primeros 20 días se debe evitar exceso de riego, lo ideal es mantener a capacidad de campo durante esos primeros 20 días.

Macrozona central:

Goteo hasta a una semana antes de cosecha. Los riegos tiempo y frecuencia deben realizarse para mantener capacidad de campo.

- **CONTROL MALEZAS:**

Se debe iniciar con una buena preparación de suelo, para asegurar los primeros 4º días libre de malezas. De preferencia a inicio se puede controlar un cultivador en los primeros meses, sobre todo en los primeros estadios de desarrollo del plantín, hasta que las guías logren cubrir el entresurco y competir favorablemente. También se aplican herbicidas con gramíneas incipientes con herbicidas específicos.

- **ENFERMEDADES Y PLAGAS:**

Es fundamental usar plántulas libres de virus o resistentes a Virus. En la parte central del país no tiene plagas que requieran tratamiento

- **RENDIMIENTO:**

Macrozona central:

40- 50 ton/ha

Macrozona sur:

No aplica

- **ÍNDICE DE COSECHA PARA COLOR O ANTIOXIDANTES:**

El camote se debe cosechar con una humedad relativa baja, por lo tanto, el riego se debe suprimir 5 a 7 días antes de la cosecha. Además, el follaje se debe cortar antes de la cosecha. Inmediatamente postcosecha el camote requiere un periodo de curado a una temperatura de 30°C, 85-90% HR durante 48-72 horas, luego se guardan en cajas. Posteriormente se pueden almacenar entre 12 a 13°C. con buena aireación. El momento de cosecha depende del mercado de procesamiento, para chips prefieren raíces no muy grandes, pero para proceso depende del equipamiento o proceso.

- **COMPUESTOS BIOACTIVOS:**

El camote de pulpa naranja es alto en carotenos totales y betacarotenos, Vitamina C.

Alfalfa

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es una forrajera perenne de la familia de las leguminosas que se caracteriza por sus hojas trifoliadas y flores de color violeta. Es la leguminosa forrajera más importante del mundo, con cerca de 32 millones hectáreas cultivadas en regiones templadas de los hemisferios norte y sur. Se conoce como la “Reina de las forrajeras” debido a su alto valor nutritivo para la alimentación de rumiantes (proteína, energía, vitaminas y minerales), alta producción de biomasa (10–25 Mg ha⁻¹ año⁻¹), y capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (Bouton, 2012). Se usa como heno y para pastoreo, pudiendo cosecharse varias veces durante la temporada de crecimiento.

La alfalfa es originaria del suroeste de Asia y se adapta a una amplia gama de climas (Inostroza *et al.*, 2021). A nivel mundial, se cultiva en condiciones climáticas diversas en cuanto a precipitación y fertilidad de suelo, así como con presencia o ausencia de agua de riego para complementar la producción (Humphries *et al.*, 2020).

En Chile se cultivan cerca de 60.000 ha de alfalfa, cubriendo una amplia gama de ambientes. Su área de cultivo se extiende desde el desierto de Atacama (S18°) a la Patagonia (S53°) y desde el nivel del mar hasta cerca de 3500 m de altitud en el altiplano chileno. En el valle regado de las zonas centro y centro-sur, se concentra cerca del 70% de la superficie cultivada con alfalfa. Se cultiva principalmente para la producción de heno en suelos de buena calidad y con riego, donde la especie expresa su alto potencial de producción de biomasa (20 a 25 Mg ha⁻¹ año⁻¹).

Propiedades saludables de interés de la Alfalfa para el mercado de “salud y bienestar”

La alfalfa se presenta como una interesante y económica fuente de ingredientes para el desarrollo de una gama de productos para la salud y bienestar de la especie humana (Russelle, 2001). La alfalfa se utiliza como matriz para la extracción de clorofilas, debido a su alta capacidad para producir biomasa a bajo costo (Humphrey, 2004). Como se discutió en el Capítulo 2 de esta publicación, las clorofilas son pigmentos demandados dentro del mercado de los colorantes naturales, debido a su color verde y a sus atributos saludables. Varios estudios han reportado efectos positivos en la salud si la clorofila es incluida en la dieta; en base a su similitud química y estructural con la molécula de hemoglobina, las clorofilas han sido utilizadas para contrarrestar efectos de la anemia en seres

humanos, así también para el control o supresión de olores y cicatrización de heridas (Hayes y Ferruzzi, 2020). También se ha asociado sus propiedades antioxidantes con actividad anti mutagénica y anticancerígena (Ferruzzi y Blakeslee, 2007; Hayes y Ferruzzi, 2020).

La alfalfa se considera una especie clave para enfrentar una mayor demanda de alimentos a nivel global, porque se propone como una fuente de proteínas de alto valor biológico por su aporte de aminoácidos esenciales (Wu *et al.*, 2020). Las proteínas de alfalfa presentan propiedades fisicoquímicas que les confieren atributos como un aditivo para el mercado de alimentos del tipo “high-protein plant-based”. Desde una perspectiva clínica, diversos estudios han demostrado que el consumo de proteínas de alfalfa puede incrementar la actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GSH-Px) y Superóxido Dismutasa (SOD). También disminuye la concentración de malondialdehído (MDA), el cual es generado en reacciones oxidativas, con esto se le atribuyen funciones como antienviejamiento, antitumorales, tratamientos y preventiva de artritis, enfermedades cardíacas (Hayes y Ferruzzi, 2020; Wu *et al.*, 2020).

Las proteínas de origen vegetal se dividen en dos categorías, de acuerdo con su solubilidad: la “fracción insoluble” o también llamada fracción verde, incluye las proteínas contenidas en organelos fotosintéticos (cloroplasto), y la “fracción soluble” o también llamada fracción blanca, que incluye proteínas citoplasmáticas donde la enzima RuBisCo constituye el 50% del total. Desde una perspectiva organoléptica, la fracción verde (insoluble) tiene un fuerte sabor a pasto, mientras que la fracción blanca es insípida. Para alimentación humana, se han desarrollado diversos métodos para la extracción industrial de la fracción blanca (Hadidi *et al.*, 2020; Nissen *et al.*, 2021; Tanambell *et al.*, 2022). Hoy, las proteínas de alfalfa están autorizadas para su comercialización en Estados Unidos, Canadá y México, principalmente como suplemento alimenticio (cápsulas, tabletas, y en formato polvo), pero también como ingrediente en bebidas y barras de chocolate (Hadidi *et al.*, 2020).

Alfalfa – características como colorante e ingrediente saludable en Chile

El manejo agronómico para la producción de clorofilas realizado en experimentos en predios de INIA y de agricultores de la precordillera de Ñuble, determinó que el contenido de clorofilas varía a lo largo de la temporada de crecimiento. Para lo cual se evaluó diferentes especies forrajeras. El contenido promedio de clorofilas varió entre 2,4 (bromo) y 3,0 (lotera) mg/g de peso fresco de forraje. Por otro lado, la producción de biomasa fresca, promedio de dos temporadas de

crecimiento, varió entre 98 mil (alfalfa) y 41 mil (festuca) kg/ha/año. Con esto se logró un rango de producción potencial de clorofila que fluctuó entre 235 (alfalfa) y 99 (ballica 2n) kg/ha/año (Figura 5.18). Entre las forrajeras evaluadas la Alfalfa fue la especie con la mayor capacidad de producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie (Figura 5.18A y 5.18B).

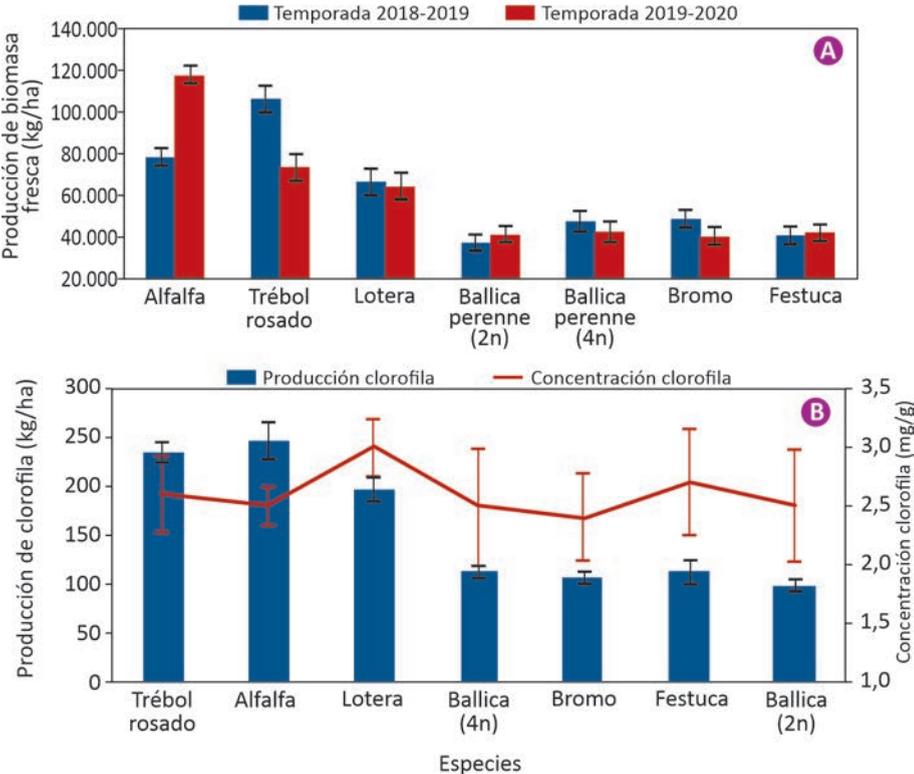


Figura 5.18. Producción de biomasa fresca (A) y concentración y producción de clorofila (B) de especies forrajeras perennes evaluada en la Región de Ñuble.

Luego de determinar que alfalfa fue la especie con mayor potencial de producción de clorofilas, se estableció un nuevo experimento para determinar el cultivar de alfalfa y prácticas de manejo agronómico que optimizan la producción de clorofila por unidad de superficie. El ensayo se estableció el sector Pueblo Seco de la Comuna de San Ignacio, en la Región de Ñuble. Se sembraron nueve cultivares de alfalfa y durante dos temporadas de crecimiento se estimó el contenido de clorofilas mediante espectroscopia-NIR. Previo a cada corte de evaluación de la producción de biomasa se registró la firma espectral de cada parcela con un

radiómetro modelo Handheld 2 de ASD (**Figura 5.19**). El cual mide la reflectancia del dosel en la sección VIS-NIR del espectro electromagnético (350-1100 nm). Con la información colectada se estimaron índices espectrales asociados al contenido de clorofila de las plantas.

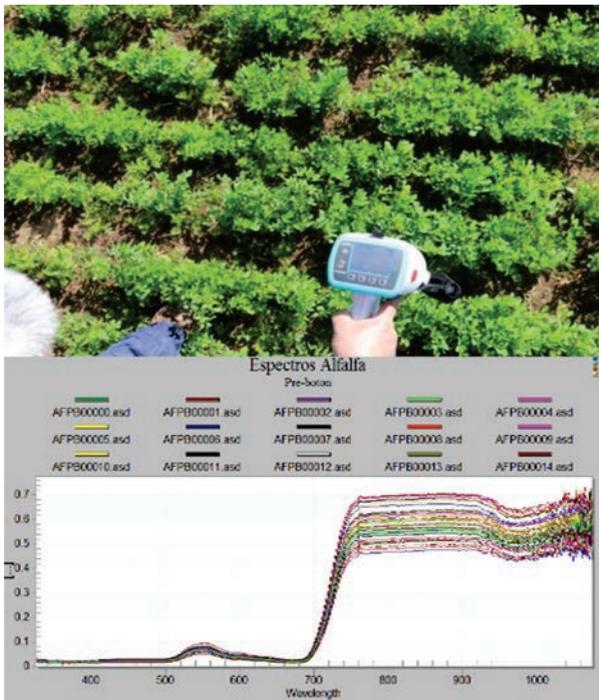


Figura 5.19. Medición de la firma espectral del dosel de nueve cultivares de alfalfa.

En el mismo experimento, se evaluó el efecto de dos frecuencias de corte mediante el uso de dos criterios basados en el estado de desarrollo de las plantas. Los tratamientos de corte fueron Pre-Botón y 10% flor (criterio recomendado). Para esta evaluación, se dividió cada parcela de 6 m de largo en sub-parcelas de 3 m. Una sección fue cortada cuando las plantas alcanzaron el estado de pre-botón y la otra en estados de 10% flor. La producción de biomasa se evaluó mediante corte con barra segadora.

Los resultados mostraron que la estrategia de corte modificó la producción de biomasa y el contenido de clorofilas en de alfalfa. Cuando las plantas fueron cortadas en pre-botón, se redujo en un 15% la producción de biomasa (**Figura 5.20**), pero

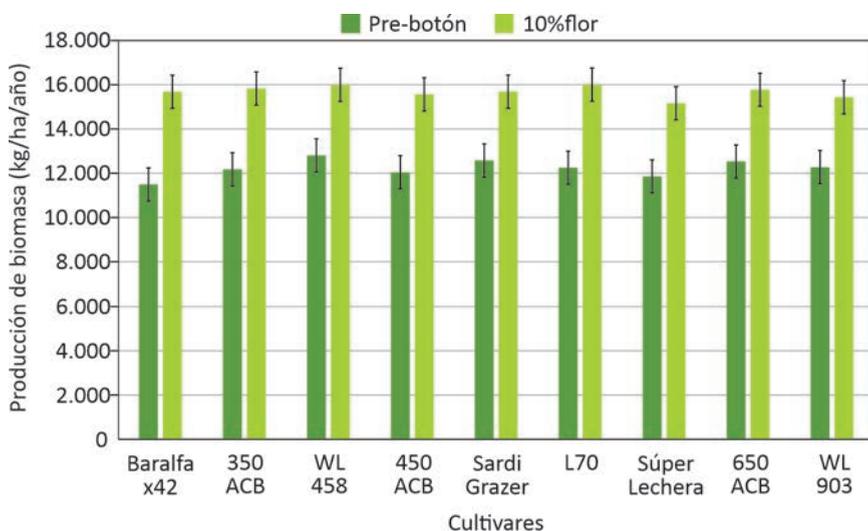


Figura 5.20. Producción de biomasa seca de nueve cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo Seco (Región de Ñuble), bajo dos estrategias de corte (Pre-botón y 10% flor). Datos de la segunda temporada de crecimiento. Barras de error indican valor de la diferencia mínima significativa (DMS).

se incrementó el contenido de clorofilas en cerca de un 10% relativo al criterio de corte convencional (10% flor), **Figura 5.21.** Pero en términos de producción de clorofila por unidad de superficie, el incremento en el contenido de clorofilas en los tejidos no logra compensar la reducción en la producción de biomasa.

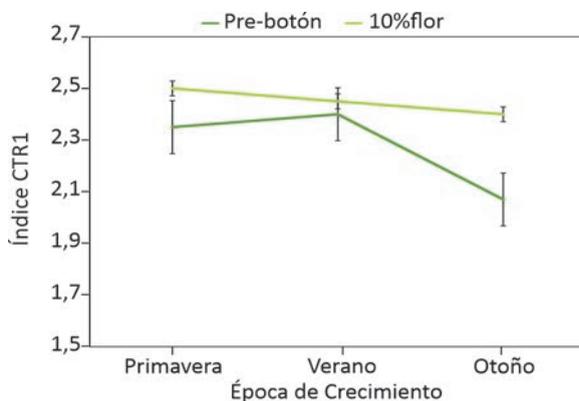


Figura 5.21. Variación anual y efecto de la estrategia de corte en el contenido de clorofilas de 9 cultivares de alfalfa cultivados en Pueblo Seco (región de Ñuble).

Datos segunda temporada de crecimiento (2020-2021). Menor valor del índice Ctr1 indica mayor contenido de clorofilas. Barras de error indican error estándar de la media.

La alfalfa fresca además de ser fuente de clorofila es una interesante fuente de proteínas, incluso esta materia prima podría ser procesada a través de la extracción selectiva, que envuelva la implementación de un proceso de extracción de clorofilas y posterior recuperación de proteínas.

Productos desarrollados a partir de alfalfa en Chile

La alfalfa fue procesada para la obtención de extractos de clorofila en el marco del proyecto FIA PYT-2018-0288 CLOROFILAS con el fin de agregar valor a esta materia prima. Primero, se desarrolló un producto piloto a partir de alfalfa en estado fresco en el laboratorio de alimentos de INIA la Platina (UMPA). Luego, este proceso y protocolo se validó y escaló a un producto mínimo viable (PMV) en una planta de proceso con resolución sanitaria (Empresa La Casona el Monte); sin someter la materia prima a procesos previos como picado o triturado, con el objeto de mantener la estructura intacta hasta el procesamiento y disminuir la degradación de las clorofilas. Los productos obtenidos a escala de PMV fueron un extracto de clorofila en formato líquido y un extracto de clorofila en formato polvo a partir de alfalfa, este último se obtuvo por la transformación del extracto líquido a polvo mediante secado por atomización (**Tabla 5.12** y **Figura 5.22**).

Tabla 5.12. Resumen del portafolio de ingredientes y productos desarrollado en base a Alfalfa en el proyecto FIA PYT-2018-0288 CLOROFILAS.

Producto del Portafolio	Etapa
Extracto de Clorofila en formato líquido Uso: Food Coloring y fuente de clorofilas	PMV para etapa pre-comercial Resolución sanitaria, HACCP, ISO
Extracto de Clorofila en formato polvo Uso: Food Coloring y fuente de clorofilas	PMV para etapa pre-comercial Resolución sanitaria, HACCP, ISO



Figura 5.22. Productos mínimo-viables (PMV) de clorofila obtenidos a partir de alfalfa en planta proceso (<https://lacaso-naelmonte.cl>), en formato líquido y en formato polvo en planta maquiladora de secado INASEC (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

El extracto en formato líquido se puede consumir en la dieta diaria o bien usar como base para mezclas de jugos, smoothies u otras preparaciones para consumir clorofila como alimento con propiedades saludables. Por otro lado, el producto en formato polvo tiene la característica de ser soluble en agua, por lo cual se puede usar como ingrediente para reforzar el color en productos instantáneos tales como jugos, sopas de verduras, mezclas para batidos, entre otros. Ambos productos se presentan como una alternativa para incluir clorofila en la dieta diaria como un ingrediente natural (**Figura 5.23**).



Figura 5.23. Procesamiento de la alfalfa para la obtención de clorofila: extracto en formato líquido (procesado en La Casona El Monte) y extracto en formato polvo obtenido a través de secado por atomización (procesado en INASEC) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

El extracto líquido alcanzó un contenido de clorofila total aproximado de 660 mg/kg de extracto, el rendimiento de clorofila por kilo de materia prima es dependiente del tipo y estado de la alfalfa que ingresa a procesamiento (época de cosecha, corte de la materia prima, volumen, entre otros). Además, la torta prensada obtenida en el proceso de extracción constituye una potencial fuente de proteínas con un rendimiento potencial de 6% en la torta prensada. El potencial de obtener clorofilas y proteínas desde alfalfa fresca es interesante para la industria de alimentos, y además permitiría diversificar el uso de alfalfa.

FICHA TÉCNICA ALFALFA

- **ESPECIE:** ALFALFA (*Medicago sativa* L.)

- **VARIEDADES:** 450ACB, 650ACB, WL458, WL903, SARDI7, SARDI10

- **LARGO DEL CULTIVO:**

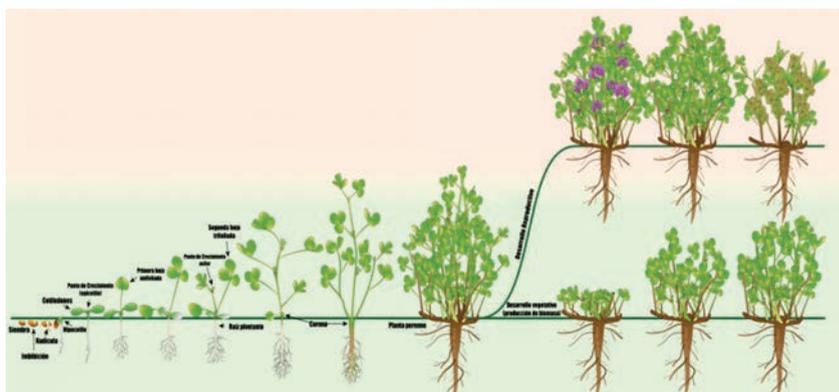
Alfalfa es una especie perenne, con un manejo agronómico adecuado puede persistir con alto potencial de producción de biomasa (18 a 20 Mg/ha) desde 4 a 6 temporadas de crecimiento.

- **CICLO DEL CULTIVO:**

La temperatura mínima para la germinación es 5°C, y la óptima está entre 15 y 20°C. Es capaz de tolerar heladas a partir de la tercera hoja trifoliada. En estado de plantas adulta es altamente tolerante a frío (dormancia 3 a 4), pudiendo sobrevivir inviernos bajo nieve. El crecimiento vegetativo se detiene con temperaturas menores a 1°C y es óptimo con temperaturas entre 20 y 30°C.

La alfalfa es una planta de día largo, induce floración cuando longitud del día es mayor a 12-14h. En la zona central y centro-sur de Chile florece a partir del mes de noviembre.

Después del año de establecimiento, la planta puede generar desde 4 a 9 ciclos de corte y rebrote (cosechas). Dependiendo de la variedad, zona agroecológica y disponibilidad de riego.



Adaptada a partir de <https://bookstore.ksre.ksu.edu/pubs/MF3348.pdf>

- **FECHA SIEMBRA:**

- **Bajo condiciones de riego**

- Otoño: desde fines de febrero hasta 30 días antes de inicio de heladas.

- Primavera: septiembre–octubre

- **COSECHA:**

- **Bajo condiciones de secano**

- Otoño: inmediatamente después de la primera lluvia efectiva hasta 30 días antes de inicio de heladas.

- Primavera: septiembre–octubre

- **SUELO Y DENSIDAD DE PLANTACIÓN:**

600–650 semillas/m²

Dosis de semilla: 20 kg/ha

La siembra se realiza con sembradora cerealera con cajón forrajero, a una dosis entre 20 kg de semillas por hectárea. La semilla de alfalfa deberá quedar a una profundidad de 1 cm. En promedio, germina entre un 70 a 80% de la semilla. Con ello se logra una población de 600 plantas/m². Luego del primer invierno sobrevive el 40%, lo cual es suficiente para que el cultivo exprese su potencial productivo.

La alfalfa requiere un suelo con pH 6 y con niveles adecuados de fósforo y potasio. No se fertiliza con nitrógeno en ningún momento. La fertilización de siembra debe ser diseñada en base análisis químico de suelo. Sin embargo, una recomendación general incluye: 2 ton carbonato de calcio/ha; 250 kg muriato potasio/ha; 200 kg de superfosfato tripe/ha; 200 kg sulphomag/ha.

La preparación de suelo suele consistir en una labor profunda (subsolado o vertedera), seguida de una labor superficial con cultivador, que permita una cama de semillas mullida y firme, de modo de provocar buen contacto entre la semilla y el suelo dado el pequeño tamaño de esta.

- **FERTILIZACIÓN:**

Después del año de establecimiento, se recomienda aplicar entre 100–200 kg/ha de muriato de potasio/ha y 200 kg/ha de sulphomag.

<ul style="list-style-type: none"> • RIEGO: Durante la estación de alta demanda evaporativa de la atmósfera (15 noviembre-15 marzo) se recomienda regar con una frecuencia de 10-15 días mediante inundación.
<ul style="list-style-type: none"> • CONTROL MALEZAS: Al término de cada temporada de crecimiento, durante la primera quincena de Julio, se recomienda control químico de malezas mediante una aplicación de Farmon (Paraquat (12%) + Diquat (8%)) en dosis de 2,5 L ha-1.
<ul style="list-style-type: none"> • ENFERMEDADES Y PLAGAS: El cultivo no presenta problemas específicos de enfermedades y plagas. Cuando se evidencian, se procede a realizar un corte.
<ul style="list-style-type: none"> • RENDIMIENTO: Riego: 20-25 ton de materia seca/ha. Secano: 12-16 ton de materia seca/ha.
<ul style="list-style-type: none"> • ÍNDICE DE COSECHA: para producción de clorofilas 10% de floración
<ul style="list-style-type: none"> • COMPUESTOS BIOACTIVOS: Clorofilas, aminoácidos

Conclusión

Las cuatro materias primas analizadas tienen potencial para la extracción de distintos ingredientes y aplicaciones como Food Coloring.

La zanahoria morada es una alternativa real de materia prima para producir en Chile tanto para color como antioxidantes, porque alcanza buenos rendimientos en campo y excelente calidad al momento de la cosecha, en términos de color, y antocianinas. El hecho que la ZM es aceptada como alimento a nivel mundial no tendría limitaciones como el maqui o cualquier "Novel Food" para entrar a distintos mercados internacionales, así podría ser una alternativa de

diversificación tanto para agricultores pequeños, medianos y grandes. Un punto crítico para su éxito es el momento óptimo de cosecha y la principal limitante es la falta de capacidad industrial en Chile para concentrar el color a valores superiores a 4 puntos de color, como antioxidantes no hay limitantes.

Las papas de PPC roja a morado intenso azulado, son materias primas de alto valor y versatilidad por su perfil interesante de antocianinas. Tendrían mercado para color, harina de color (polvo), flakes y snacks de colores, dependiendo del color. Los PPC roja a morada clara tienen una buena aceptación en el mercado de snacks saludables (papas-fritas), mientras que las PPC púrpura a morada oscura tiene un mercado muy interesante para flakes y harina libre de gluten. Por otra parte, las PPC morada y roja tiene un mercado para color, particularmente la roja.

El camote naranja, tienen un mercado muy interesante para flakes, harina libre de gluten y pulpa para diferentes usos en Food Coloring, los genotipos para color o pulpa, no son aptos para fritura porque no fríen bien.

La Alfalfa tienen un mercado para color, E140, que comprende la extracción directa desde alfalfa fresca derivados de clorofila. La estabilidad clorofilas como pigmentos es un desafío a altas temperaturas, los PMV mostraron ser una alternativa en particular en formato polvo. La microencapsulación es una de las alternativas para mejorar su estabilidad.

Las materia primas de este capítulo tienen un alto potencial agronómico y para ingredientes. Sin embargo, uno de los desafíos nivel nacional, es que Chile no tiene capacidades instaladas a nivel industrial para concentrar más el color, así como para obtener compuestos más sofisticados y de alto valor como el delfinol®. Por otra parte, la capacidad de maquila es limitada en el país, tanto en volumen de proceso como en disponibilidad de servicio, lo cual se refleja en los altos costos de procesamiento en liofilizado, transformación a extractos líquidos y polvos.

Literatura Citada

Akhtar, S., Rauf, A., Imran, M., Qamar, M., Riaz, M., & Mubarak, M. S. (2017). Black carrot (*Daucus carota* L.), dietary and health promoting perspectives of its polyphenols: A review. *Trends in Food Science & Technology* 66, 36–47.

- Arif, A., Ahmad, A., & Ahmad, M. (2021). Toxicity assessment of carmine and its interaction with calf thymus DNA. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 39(16), 5861–5871.
- Biswas, P., Hasan, W., Jain, J., Kori, R. K., Bose, D., & Yadav, R. S. (2021). Non-permitted food colorants induced neurotoxicity in cerebellum of rat brain. *Drug and Chemical Toxicology* 1–8. <https://doi.org/10.1080/01480545.2021.1997542>.
- Bonavía, D. (1984). La importancia de los restos de papas y camotes de época precerámica hallados en el valle de Casma. *Journal de la Société des Américanistes* 7–20.
- Bouton, J. H. (2012). An overview of the role of lucerne (*Medicago sativa* L.) in pastoral agriculture. *Crop and Pasture Science* 63(9), 734–738.
- Coburn, J., Wells, M. S., Sheaffer, C. C., Ruan, R., & Samac, D. A. (2021). Comparison of plant feedstocks and methods to recover leaf proteins from wet fractionation of alfalfa for potential use in aquaculture, poultry, and livestock feeds. *Agrosystems, Geosciences & Environment* 4(2), e20184.
- Cusumano, C., & Zamudio, N. (2013). Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) en la provincia de Tucumán (Argentina). *Ediciones INTA*. 48p.
- Dong, R., Liu, S., Xie, J., Chen, Y., Zheng, Y., Zhang, X., ... & Yu, Q. (2021). The recovery, catabolism and potential bioactivity of polyphenols from carrot subjected to *in vitro* simulated digestion and colonic fermentation. *Food Research International* 143, 110263.
- Eichhorn, S., & Winterhalter, P. (2005). Anthocyanins from pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Food Research International* 38(8–9), 943–948.
- Ellison, S. (2019) Carrot Domestication. In: Simon P., Iorizzo M., Grzebelus D., Baranski R. (eds) *The Carrot Genome. Compendium of Plant Genomes*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_5.
- Ercoli, S., Cartes, J., Cornejo, P., Tereucán, G., Winterhalter, P., Contreras, B., & Ruiz, A. (2021). Stability of phenolic compounds, antioxidant activity and colour parameters of a coloured extract obtained from coloured-flesh potatoes. *LWT* 136, 110370.

- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of food engineering* 80(3), 805-812.
- Esatbeyoglu, T., Rodríguez-Werner, M., Schlösser, A., Liehr, M., Ipharraguerre, I., Winterhalter, P., & Rimbach, G. (2016). Fractionation of plant bioactives from black carrots (*Daucus carota* subspecies *sativus* varietas *atrorubens* Alef.) by adsorptive membrane chromatography and analysis of their potential anti-diabetic activity. *Journal of agricultural and food chemistry* 64(29), 5901-5908.
- FAOSTAT (2019). <http://www.fao.org/statistics/es/> (Último acceso 01 junio 2021).
- Ferruzzi, M. G., & Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition research* 27(1), 1-12.
- Hayes, M., & Ferruzzi, M. G. (2020). Update on the bioavailability and chemopreventative mechanisms of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research* 81, 19-37.
- Flavorix (2018). Colorante natural antocianina E-163. <http://flavorix.com/producto/colorante-natural-antocianina-e-163/>.
- García-Méndez, A. D., Pérez-Darniz, M. Y., García-Méndez, A. A., & Madriz-Iztúriz, P. M. (2016). Caracterización postcosecha y composición química de la batata (*Ipomoea batatas* (L.) Lamb.) variedad Topera. *Agronomía Mesoamericana* 27(2), 287-300.
- GraphPad Prism version 9.3.0 (2021) for Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA. www.graphpad.com. (último acceso el 15 noviembre 2021).
- Hadidi, M., Khaksar, F. B., Pagan, J., & Ibarz, A. (2020). Application of Ultrasound-Ultrafiltration-Assisted alkaline isoelectric precipitation (UUAaip) technique for producing alfalfa protein isolate for human consumption: Optimization, comparison, physicochemical, and functional properties. *Food Research International* 130, 108907.
- Hampwaye, G., Mataa, M., Siame, G. & Kamanga, OL. (2016). City Regions Food System Situation Analysis, Lusaka Zambia. 2016. FAO, International Network of Resource Centres on Urban Agriculture and Food Security (RUAF) and University of Zambia. FAO Plant Production and Protection Division (AGP). <http://www.fao.org/3/a-bl222e.pdf>.

- Hair, R., Sakaki, J. R., & Chun, O. K. (2021). Anthocyanins, microbiome and health benefits in aging. *Molecules* 26(3), 537.
- Humphrey, A. M. (2004). Chlorophyll as a color and functional ingredient. *Journal of food science* 69(5), C422-C425.
- Humphries, A. W., Ovalle, C., Hughes, S., del Pozo, A., Inostroza, L., Barahona, V., ... & Kilian, B. (2021). Characterization and pre-breeding of diverse alfalfa wild relatives originating from drought-stressed environments. *Crop Science* 61(1), 69-88.
- Inostroza, L., Espinoza, S., Barahona, V., Gerding, M., Humphries, A., Del Pozo, A., & Ovalle, C. (2021). Phenotypic Diversity and Productivity of *Medicago sativa* Subspecies from Drought-Prone Environments in Mediterranean Type Climates. *Plants* 10(5), 862. <https://doi.org/10.3390/plants10050862>.
- Jayaprakasha, G. K., Murthy, K. C., Pellati, F., & Patil, B. S. (2019). BetaSweet carrot extracts have antioxidant activity and *in vitro* antiproliferative effects against breast cancer cells. *Journal of Functional Foods* 62, 103552.
- Khan, M. Z., Takemura, M., Maoka, T., Otani, M., & Misawa, N. (2016). Carotenoid analysis of sweetpotato *Ipomoea batatas* and functional identification of its lycopene β - and ϵ -cyclase genes. *Zeitschrift für Naturforschung C* 71(9-10), 313-322.
- Khandare, V., Walia, S., Singh, M., & Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing* 89(4), 482-486.
- Lardizábal, R. (2003). Manual de producción de camote. Fintrac CDA 25p. https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/Manual_de_Produccion_de_Camote.pdf.
- Li, S., Wang, T., Wu, B., Fu, W., Xu, B., Pamuru, R. R., ... & Reddivari, L. (2021). Anthocyanin-containing purple potatoes ameliorate DSS-induced colitis in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 93, 108616.
- Linares, E., Bye, R., Rosa-Ramírez, D., & Pereda-Miranda, R. (2008). El Camote. *Biodiversitas* 81 (2), 11-15.

- Ma, J., Lin, P., Chen, C., Ma, J., Ma, W., Wu, M., & Sun, B. (2021). Variation in anthocyanins of different varieties of purple carrots. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 3 (632) 032037.
- Mahapatra, D. K., & Bharti, S. K. (2020). Pharmaceutical Natural and Synthetic Colorants, Pigments, Dyes, and Lakes: Applications, Perspectives, and Regulatory Aspects. In *Biologically Active Natural Products* (pp. 205–223). Apple Academic Press.
- Marti, H.R. (2008). La batata: oportunidades para una hortaliza subutilizada. *Boletín Hortícola* 13(39), 1–4.
- Marti, H. R., Corbino, G. B., & Chludil, H. D. (2011). La batata: el redescubrimiento de un cultivo. *Ciencia Hoy* 21 (121), 14–23.
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules* 25(17), 3809.
- Montilla, E. C., Arzaba, M. R., Hillebrand, S., & Winterhalter, P. (2011). Anthocyanin composition of black carrot (*Daucus carota* ssp. sativus var. atropurpureus Alef.) cultivars Antonina, Beta Sweet, Deep Purple, and Purple Haze. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(7), 3385–3390.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International* 21(8), 604–612.
- Mullin, W. J., Rosa, N., & Reynolds, L. B. (1994). Dietary fibre in sweet potatoes. *Food research international* 27(6), 563–565.
- Muñoz, M., Folch, C., Rodríguez, F., Kalazich, J., Orena, S., Santos, J., ... & Puga, A. (2016). Genotype number and allelic diversity overview in the national collection of Chilean potatoes. *Potato Research* 59(3), 227–240.
- Nissen, S. H., Schmidt, J. M., Gregersen, S., Hammershøj, M., Møller, A. H., Danielsen, M., ... & Dalsgaard, T. K. (2021). Increased solubility and functional properties of precipitated Alfalfa protein concentrate subjected to pH shift processes. *Food Hydrocolloids* 119, 106874.

- Peña, C., Palomeque, L., Restrepo-Sánchez, L. P., Kushalappa, A., Mosquera, T., & Narváez-Cuenca, C. E. (2021). Variation of mineral contents with nutritional interest in a collection of *Solanum tuberosum* Group Phureja tubers. *International Journal of Food Science & Technology* 56(9), 4594–4603. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15115>.
- Pino, M.T. (ed.). (2016). Estrés hídrico y térmico en papas avances y protocolos. Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias, N°331. Santiago, Chile, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/6486>.
- Pino, M. T., Saavedra, J., Alvarez, F., Gutierrez, R., Hernandez, C. & Zamora, O. (2017) Camote: materia prima para colorantes. Informativo INIA La Platina N°36. Santiago, Chile, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4674>.
- Pino, M.T. & Zamora, O. (2018). Colorantes naturales de alto valor, una tendencia que crece en la industria de alimentos, en Tierra Adentro INIA N°110. Mar/Abr, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/5446>.
- Pino, M.T., & Vergara, C. (2021). Red and Purple Flesh Potatoes a Healthy and Attractive Alternative Associated with New Market Trends. In *Solanum tuberosum* – a Promising Crop for Starvation Problem IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.99181. <https://www.intechopen.com/chapters/77704>.
- Reyes, M. & Lavín, A. (2005). Camote: Un cultivo para el secano costero de la provincia de Cauquenes. Informativo INIA N° 16, Instituto de Investigaciones Agropecuarias- Raihuen. 2 p.
- Rumbaoa, R. G. O., Cornago, D. F., & Geronimo, I. M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. *Food Chemistry* 113(4), 1133–1138.
- Russelle, M. P. (2001). Alfalfa: After an 8,000-year journey, the "Queen of Forages" stands poised to enjoy renewed popularity. *American Scientist* 89(3), 252–261.
- Sampaio, S. L., Petropoulos, S. A., Dias, M. I., Pereira, C., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., ... & Barros, L. (2021a). Phenolic composition and cell-based biological activities of ten coloured potato peels (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry* 363, 130360.

- Sampaio, S. L., Lonchamp, J., Dias, M. I., Liddle, C., Petropoulos, S. A., Glamočlija, J., ... & Barros, L. (2021b). Anthocyanin-rich extracts from purple and red potatoes as natural colourants: Bioactive properties, application in a soft drink formulation and sensory analysis. *Food Chemistry* 342, 128526.
- Sensient (2021a). Sensient Color of the Year, in link <https://sensientfoodcolors.com/en-la/world-markets/2021-sensient-color-of-the-year/> (Último acceso 5 diciembre 2021).
- Sensient (2021b). The Power of Food Color, in link <https://sensientfoodcolors.com/en-la/world-markets/the-power-of-food-color/> (Último acceso 6 noviembre 2021).
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in food science & technology* 15(1), 19–38.
- Tanambell, H., Møller, A. H., Corredig, M., & Dalsgaard, T. K. (2022). RuBisCO from alfalfa-native subunits preservation through sodium sulfite addition and reduced solubility after acid precipitation followed by freeze-drying. *LWT* 154, 112682.
- Tatarowska, B., Milczarek, D., Wszelaczyńska, E., Pobereźny, J., Keutgen, N., Keutgen, A. J., & Flis, B. (2019). Carotenoids variability of potato tubers in relation to genotype, growing location and year. *American Journal of Potato Research* 96(5), 493–504.
- Tay, K., & Sepúlveda, P. (2011). *Alternaria* spp., una enfermedad importante en el cultivo de la zanahoria para el Alto Loa. Informativo INIA-CALAMA 7, 1–4.
- Vergara, C., Zamora, O., Álvarez, F., Kehr, E., & Pino, M. T. (2019). Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. Informativo INIA La Platina N°38. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4909>.
- Vergara, C., Pino, M. T., Zamora, O., Alvarez, F., Greve, M. J., Muñoz, M., & Uribe, M. (2020a). Alimentos que colorean: extractos de papas de pulpa color una alternativa saludable. Informativo INIA La Platina N°43. En: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/3973>.

- Vergara, C., Pino, M. T., Zamora, O., Parada, J., Pérez, R., Uribe, M., & Kalazich, J. (2020b). Microencapsulation of anthocyanin extracted from purple flesh cultivated potatoes by spray drying and its effects on *in vitro* gastrointestinal digestion. *Molecules* 25(3), 722.
- Vidal, A. R., Zaucedo-Zuñiga, A. L., & de Lorena Ramos-García, M. (2018). Propiedades nutrimentales del camote (*Ipomoea batatas* L.) y sus beneficios en la salud humana. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 19(2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81357541001>.
- Vilcanqui-Pérez, F., & Vílchez-Perales, C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 67(2), 146-156.
- Wu, Z., Shu, T., Zhang, M., & Liu, W. (2020). Foam fractionation for effective recovery of leaf protein from alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Separation Science and Technology* 55(7), 1388-1397.
- Yáñez, V.O. (2002). Aislamiento y Caracterización de Marcadores Moleculares Microsatélites a partir de la Construcción de Librerías Genómicas Enriquecidas de Camote (*Ipomoea batatas* (L.)), Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo con Mención en Genética, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú 108p.
- Żary-Sikorska, E., Fotschki, B., Fotschki, J., Wiczowski, W., & Juśkiewicz, J. (2019). Preparations from purple carrots containing anthocyanins improved intestine microbial activity, serum lipid profile and antioxidant status in rats. *Journal of Functional Foods* 60, 103442.

Capítulo 6

Potencial de frutales nativos chilenos como fuente de antioxidantes y colorantes

María Teresa Pino^{1*}, Claudia Mc Leod B.², Erwin Domínguez D.², Olga Zamora V.¹, Francisco Álvarez M.¹, Karina Águila M.², Ricardo Pérez Díaz³

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

² Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- Kampenaike. Casilla 277, Punta Arenas, Chile

³ Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- La Platina. CP: 8831314. Santiago, Chile (hasta marzo 2020).

*mtpino@inia.cl

6.1 El mercado de las “Superfrutas” crece frente a consumidores más conscientes de la salud y su alimentación

El mercado de las “Superfrutas” procesadas se encuentra en crecimiento y ha cobrado aún mayor relevancia en el contexto de la pandemia de COVID 19, debido a su alto contenido de antioxidantes y otros nutrientes beneficiosos para la salud. Dentro de los beneficios asociados a su consumo se describe la prevención de enfermedades cardíacas, cáncer y también ayudaría a retrasar el proceso de envejecimiento y otros procesos inflamatorios propios de Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT). La creciente incidencia de problemas de salud en la población, acompañado de un creciente grupo de consumidores conscientes e interesados en adoptar dietas más saludables, impulsan significativamente el mercado de “Superfrutas”. A nivel mundial, este nicho alcanzó cerca de los USD 45 mil millones de dólares americanos en 2020, y se proyecta una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) cercana al 5.5 % para el año 2026 (*Coherent Market Insights, 2020; Market Data Forecast, 2021*). De acuerdo con los analistas, este aumento también estaría impulsado por la mayor demanda por alimentos

listos para consumir (*Ready To Eat*) y bebidas listas para beber (*Ready To Drink*). Algunas de las “Superfrutas” más populares incluyen açai, granada, cranberries (arándano rojo), arándanos, frambuesas, maqui berry, entre otros.

Este tipo de “Superfrutas” es comercializado en diversos formatos: polvo, líquido, congelado e incluso envasados para aplicaciones en alimentos para bebés o “babyfood”. También suelen encontrarse en snacks, jugos, bebidas deportivas, bebidas saborizadas, agua fortificada, suplementos dietéticos, alimentos funcionales, además de la industria cosmética.

Del mismo modo, se comercializan como pulpas y concentrados para su uso como saborizantes naturales, colorantes naturales y Foodcoloring en formato líquido altamente concentrado (>60°BRIX), o en formato polvo (secado por atomización y liofilizado). Se proyecta para el año 2027, que los productos basados en “superfrutas” alcanzarán valores sobre USD 70 mil millones de dólares americanos (Coherent Market Insights, 2020). Las principales empresas que dominan el mercado global de las “superfrutas” procesadas buscan diversificar su cartera de productos y expandir sus negocios en los mercados emergentes, a través de fusiones estratégicas y adquisiciones. Las principales limitantes asociadas a su expansión se encuentran asociadas a los altos costos de producción, altos costos de cosecha, costos de procesamiento y almacenamiento. Otra gran limitante es la falta de conocimiento en el comportamiento de estas especies como cultivos comerciales, ya que, la mayoría de los frutos proviene de colectas silvestres (maqui y açai), lo cual explicaría en parte la falta de uniformidad en términos de sabor y calidad del producto final. Sin duda, estos son algunos de los desafíos a considerar y que podrían limitar su crecimiento en el mercado global proyectado (IICA, 2018).

Un gran desafío que deben enfrentar los frutos nativos o sus derivados en escalamiento comercial es cumplir con las normas internacionales. A modo de ejemplo, para ingresar al mercado europeo se debe dar cumplimiento a la Regulación Europea 2283 (2015/2283), respecto a los alimentos nuevos o “Novel Food” (https://ec.europa.eu/food/safety/novel-food/legislation_en). Esta regulación hace mención a los nuevos alimentos e ingredientes alimentarios que no se utilizaban con estos fines en cantidades significativas antes del 15 de mayo de 1997 en la Unión Europea. Los alimentos o ingredientes alimentarios considerados como Novel Food deberán cumplir con los siguientes requisitos para ingresar a Europa: a) no significar un riesgo para la salud de las personas, b) para reemplazar un alimento existente debe ser nutricionalmente mejor, c) debe estar correctamente

etiquetado y no confundir al consumidor d) la inocuidad y seguridad alimentaria debe estar fundamentada con publicaciones científicas, e) cumplir con las condiciones de uso según el etiquetado de acuerdo a las normas o autorizadas.

Un ejemplo muy interesante para hacer seguimiento es el del açai, fruta amazónica, que comenzó a ser popular en las zonas urbanas del sur de Brasil durante la década de los 60 (**Figura 6.1**). A pesar de, ser un fruto desconocido hace unos 15 años atrás, actualmente su jugo es reconocido como un “superalimento” a nivel mundial. Actualmente, en algunas ciudades de Brasil el consumo de açai es más importante que el de leche, lo cual refleja su presencia e importancia del mercado interno; no obstante, aún se observa un creciente aumento de la demanda con una consecuente alza en los precios. Mientras hace unos pocos años atrás, un litro de jugo de açai costaba 52 centavos de dólar, ahora alcanza los 2,60 dólares. En la actualidad, el consumo de Açai ha traspasado las fronteras de Brasil y se exporta principalmente a EE.UU. (80%), donde se consume como bebida energética, tal como lo hacen en el sur de Brasil. Por otra parte, la demanda externa del açai ha sido impulsada por varias empresas internacionales para el mercado de los súper alimentos; entre los actores destacan Sambazon Inc. (California, USA) que maneja un 80% de las exportaciones de açai hacia Estados Unidos; la Fundación MonaVie (USA), que elabora la bebida nutritiva “Mona Vie”; Açai do Brasil, que exporta a Portugal y al Reino Unido; y Açai Frooty que exporta a China, Argentina, Uruguay, Australia, Holanda, Inglaterra, Suiza, Rusia, Corea, además de Estados Unidos.



Figura 6.1. Fruto y productos de açai (*Euterpe oleracea* Mart) originario de Brasil que se comercializa en distintos países (Fuente: adaptado de <https://www.pngmart.com/>)

Es importante destacar que parte del éxito de este fruto nativo a nivel internacional se explica porque tanto la investigación como innovación han sido apoyada por fondos públicos y privados, lo cual se ve reflejado en el aumento exponencial del número de publicaciones anuales en los últimos 20 años (**Figura 6.2**). Si bien, en Chile se han desarrollado iniciativas tendientes a caracterizar frutos nativos y determinar su potencial en la industria alimentaria, se requieren mayores esfuerzos en I+D+i con una mirada estratégica a largo largo plazo, que permita la valorización y un manejo sostenible del recurso vegetal.

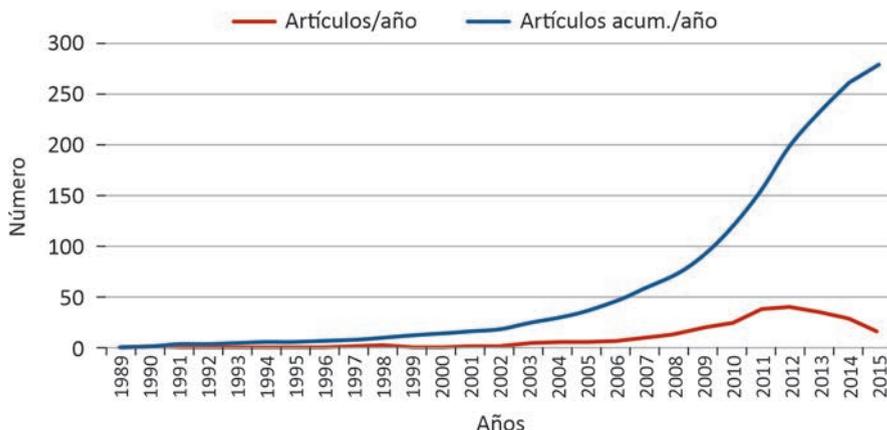


Figura 6.2. Publicaciones sobre açai (*Euterpe oleracea* Mart.) en Scopus entre 1989 y 2015 (Fuente: Scheuermann, 2015).

6.2 Potencial de frutales nativos chilenos

En el contexto de la búsqueda de materias primas para la industria de alimentos, colorantes y antioxidantes, el INIA en la última década ha destinado importantes esfuerzos en caracterizar y evaluar el potencial de algunos frutales nativos, y con ello responder a la necesidad cierta del sector de diversificar su cartera de productos y expandir sus negocios en los mercados emergentes. En este contexto, varios frutales nativos presentes en nuestro país tienen un alto potencial, debido a su alto contenido de antioxidantes y otras propiedades de interés para la industria de alimentos y farmacéutica.

La familia Berberidaceae tiene cerca de 15 géneros y 650 especies, que se distribuyen en las zonas templadas del hemisferio Norte, Eurasia y nororiente de África. En América del Sur, el género *Berberis* es el único descrito y en Chile se han reconocido a lo menos 18 especies de este género, distribuidas desde Antofagas-

ta a Magallanes y Antártica Chilena, incluyendo el Archipiélago Juan Fernández (Landrum, 1999). La presencia de hibridación e introgresión, entre especies del género *Berberis* en zonas de transición, ha producido formas intermedias de difícil clasificación taxonómica (Bottini *et al.*, 2007), entre las especies más conocidas en Chile destacan en orden de importancia el calafate (*Berberis microphylla* G. Forst.), michay (*Berberis chilensis* Gilles; *Berberis valdiviana* Phil; *Berberis darwinii* Hook) y calafatillo (*Berberis empetrifolia* Lam.). El común de la población tiende a confundir el fruto del calafate con el michay particularmente en la macrozona sur, no así en las regiones de Aysén y Magallanes, donde existe mayor cultura en el consumo del calafate. Sin embargo, estas dos especies son muy distintas en el tipo de hoja y fruto. El fruto del michay se caracteriza por tener un estilo persistente, no así el calafate ni el calafatillo (**Figura 6.3**).



Figura 6.3. Comparación entre (1) hojas y (2) frutos de tres especies del género *Berberis*; calafatillo (A1, A2), calafate (B1, B2), y michay (C1, C2) (Fuente: adaptado de Pino *et al.*, 2019; Mc Leod *et al.*, 2020).

Calafate

El calafate (*Berberis microphylla* G. Forst.) es un frutal nativo de Chile y Argentina. En Chile se distribuye entre Curicó y Magallanes, en la actualidad la mayor población se concentra en las regiones de Aysén y Magallanes. El INIA ha valorizado y evaluado calafates desde la región del Biobío al sur, observando una diversidad de tipos de suelos y de condiciones climáticas en los cuales crece. La floración se

inicia desde el mes de septiembre hasta diciembre, dependiendo de la zona geográfica. Mientras la floración más tardía ocurre en la región de Magallanes desde la segunda quincena de octubre hasta diciembre, en la macrozona sur (del Biobío a la Araucanía) florece principalmente entre septiembre y octubre. La fructificación y cosecha se concentra entre noviembre y enero en la macrozona sur y entre los meses de febrero a marzo en la región de Magallanes.

INIA ha trabajado en la selección de clones con mayor producción de fruta por planta, frutos de mayor calibre, menor número de semillas por fruto, así como en mayor concentración de color y actividad antioxidante. Asimismo, se establecieron plantaciones experimentales para evaluar su comportamiento fenológico en la macrozona centro (Leyda, región de Valparaíso), en la macrozona sur (Teodoro Schmidt, región de la Araucanía), además de Magallanes (Cabeza de Mar, región de Magallanes), con densidades de plantación de 3000 plantas por hectárea, y riego por goteo (**Figura 6.4**).



Figura 6.4. Planta de calafate de clon INIA creciendo bajo riego por goteo en Magallanes (tres temporadas) y frutos cosechados durante el mes de febrero (Fuente: INIA Kampenaike 2017).

El calafate se reproduce vegetativamente mediante estolones, y por semillas (**Figuras 6.5A1** y **6.5A2**), estas últimas se dispersan principalmente a través de

las aves, pero también a través de animales que lo consumen. Si bien, muchos vendedores de plantas de calafate lo reproducen a partir de semilla, por la facilidad en su germinación, esto lleva a que el productor tendrá una plantación heterogénea en plantas, en calidad del fruto y, en la época de floración y cosecha. Por lo cual lo recomendable es, establecer plantaciones a partir de plantas clonales seleccionadas las que deberán ser propagadas en forma vegetativa. Con fines de domesticación y establecer cultivos de calafate uniformes y de alto rendimiento, se han implementado métodos de propagación vegetativa, en base a enraizamientos de estacas o *in vitro*, ya sea por propagación *in vitro* convencional (**Figura 6.5B1**) o por biorreactores para clones elites de alto rendimiento (**Figuras 6.5B2, 6.5B3**). En la propagación *in vitro*, el periodo crítico, es la aclimatación, etapa intermedia antes de ir al campo, no así la multiplicación ni el enraizamiento.

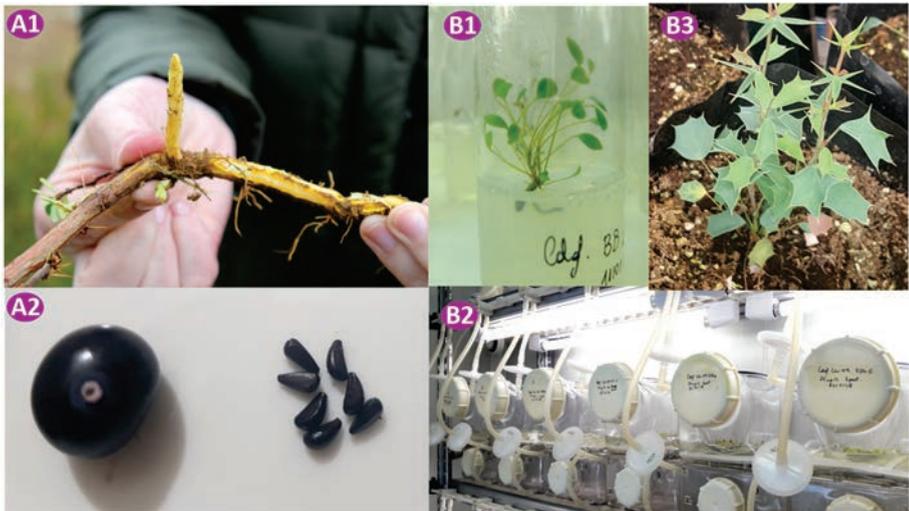


Figura 6.5. Propagación vegetativa del calafate mediante rizomas (A1) y por semillas (A2). Propagación vegetativa para clones elites de alto rendimiento, ya sea por propagación *in vitro* convencional (B1) y por biorreactores SIT en la unidad de materias primas y alimentos de INIA La Platina (B2, B3) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Una vez establecidas las plantas en terreno, porque el calafate florece y fructifica en la ramilla de un año (crecimiento de la temporada anterior), se recomienda iniciar las cosechas después del segundo año y eliminar las primeras flores, con el objetivo de favorecer el crecimiento vegetativo y conducir la planta en los primeros años.

Una vez establecido además de implementar riego y conducir la planta, es fundamental acompañarlo con un buen manejo de fertilización. Al respecto, un estudio en distintas zonas geográficas de Magallanes (Ojeda *et al.*, 2017) mostró que el desarrollo radicular máximo de la planta de calafate ocurre entre los meses de diciembre a febrero, así como su mayor potencial de absorción de nutrientes. La mayor demanda de nutrientes se registró en hojas y brotes nuevos de la planta. Luego, desde diciembre en adelante, se observó una disminución gradual de la concentración de nutrientes en hojas y tallos, lo cual está directamente asociado con el crecimiento y maduración del fruto. Por otra parte, el análisis foliar mostró que las concentraciones de nutrientes en las hojas de Calafate son similares a lo reportado en arándano y en murtilla. Mientras que para calafate y arándano el porcentaje de nitrógeno (N) foliar fluctuó entre 1,6 y 2,0%, en murtilla está entre 1,3 - 1,5%. Para el fósforo foliar (P), en las tres especies fue similar, entre 0,1 y 0,4%. El Potasio (K) estuvo en un rango entre 0,3 y 0,7%. Mientras, el calcio (Ca) se movió en un rango entre 0,4 - 0,8% para el calafate y en arándano, el Ca estuvo entre 1,1 - 1,2% para Murtilla. En la **Tabla 6.1** se entrega el rango de macro y micronutrientes a nivel foliar.

Tabla 6.1. Niveles de nutrientes en calafate en hojas nuevas en dos zonas geográficas de la región de Magallanes (El Chingue en Última Esperanza y Cabeza de Mar en Magallanes) (Fuente: adaptado de Ojeda *et al.*, 2017).

N %	P%	K%	Ca%	Mg%	Na	Fe	Mn	Zn	Cu	B
					mg/k	mg/k	mg/k	mg/k	mg/k	mg/k
1,6-2,0	0,1-0,4	0,3-0,7	0,3-0,8	0,1-0,3	448	60-120	39-350	8-30	4-20	11-70

El calafate es principalmente un fruto de recolección. A pesar de esto en el año 2020 se reportaron 0,2 hectáreas de calafate cultivado en Chile (ODEPA, 2021). No obstante, existen varios productos que se comercializan principalmente a partir de fruto recolectado por su capacidad antioxidante. En la **Tabla 6.2** y **Figura 6.7** se compara la actividad antioxidante y antocianinas respecto otros frutales nativos y frutales conocidos como el arándano, entre otros.

- **Nombre Común:**
Calafate (Argentina y Chile).
- **Nombre Científico:**
Berberis microphylla G. Forst.
- **Familia:**
Berberidaceae
- **Fecha de Floración:**
Octubre a diciembre (Magallanes).
Septiembre a octubre (Biobío a la Araucanía).
- **Fecha de Fructificación:**
Febrero a marzo (Magallanes).
noviembre y enero (Biobío a la Araucanía).



- **Breve Descripción Botánica:**
Arbusto espinoso perenne, de 1 hasta 3 metros de altura, de tronco ramificado desde la base. El interior de su tallo es de color amarilla por la presencia de berberina. Sus hojas están compuestas por tres folíolos pequeños aovados y en su base tienen tres estipulas modificadas en espinas (dos laterales y una central más larga).
- **Fruto:**
Son bayas comestibles subglobosas, verdes cuando están inmaduras y se tornan de color azul violáceo al madurar con 5 a 17 semillas. Las antocianinas más relevantes son delfinida-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, malvidina-3-glucósido.
- **Uso farmacéutico popular:**
En medicina popular se le asignan propiedades específicas, como antidiarreico, febrífugo, antiséptico y para combatir resfríos. Los aónikenk usaban la berberina (pigmento amarillo bajo la corteza y raíces) para entrar en trance debido a su efecto alucinógeno.
- **Otros usos populares:**
Las hojas se utilizan para la elaboración de infusiones. Sus frutos son utilizados para su consumo en fresco, en la elaboración mermeladas, jaleas, licores, jarabes, vinos, jugos y chutneys. Industrialmente los frutos se destinan a la producción de bebidas sin alcohol, polvo liofilizado como antioxidantes.

Michay

El michay se encuentra en Argentina y en Chile. Mientras en Argentina crece principalmente entre Río Negro y Neuquén (Landrum, 1999), en Chile se extiende desde Coquimbo a Magallanes. Las tres especies de michay más conocidas en Chile (**Figura 6.6**), son: *Berberis chilensis* Gillies ex Hook. & Arn que se distribuye entre Coquimbo y la Araucanía, *Berberis valdiviana* Phil entre Colchagua y La Unión y *Berberis darwinii* Hook que crece desde Curicó a Magallanes, destacando por su amplia distribución. Es importante destacar que (Bottini *et al.*, 2000; Domínguez, 2012; Fajardo *et al.*, 2021) indican que su distribución natural tiene su límite en Aysén. *B. darwinii* tiene un potencial interesante por su amplia capacidad de adaptación a distintas condiciones edafoclimáticas, mientras que *B. chilensis* y *B. valdiviana* son especies endémicas y muestran un área más restringida en su distribución geográfica.

El fruto del michay es más pequeño que el calafate y se diferencia por su característico fruto azulado que termina en un estilo persistente y su acumulación de metabolitos secundarios del tipo flavonoides (Domínguez; 2012, Pino *et al.*, 2019). El michay es principalmente un fruto de recolección, menos conocido y valorado que el calafate y el maqui. Sin embargo, ODEPA (2021) reportó 2,9 hectáreas de Michay cultivado en el año 2020. Por su amplia distribución en Chile (**Figura 6.6**) y actividad antioxidante mayor al arándano y cranberry se recomienda no sólo protegerlo, sino también cultivarlo para la industria de ingredientes o alimentos saludables. El INIA está apoyando a productores de la zona de Leyda (San Antonio, región de Valparaíso) en la selección, valorización y resguardo *in situ* del material. En la **Tabla 6.2** y **Figura 6.7** se compara y evalúa el potencial de este fruto a partir de distintas localidades respecto al maqui, calafate, calafatillo y frutales conocidos como el cranberry y arándano, entre otros.



Figura 6.6. Distribución de las tres especies de michay seleccionadas en función de estado sanitario de la planta, vigor, carga frutal y tamaño de fruto (A) *Berberis chilensis* (B) *Berberis valdiviana* y (C) *Berberis darwinii* (Fuente: adaptado de Pino *et al.*, 2019).

- **Nombre común:**
Michay
- **Nombre científico:**
Berberis chilensis Gilles;
Berberis valdiviana Phil;
Berberis darwinii Hook
- **Familia:**
Berberidaceae
- **Fecha de Floración:**
Septiembre a octubre
(Valparaíso a Maule).
Septiembre a noviembre
(Biobío a Araucanía)
Octubre a diciembre (Magallanes).



- **Fecha de Fructificación:**
Noviembre a diciembre (Valparaíso a Maule).
Diciembre a enero (Biobío a Araucanía)
Diciembre a marzo (Magallanes).
- **Breve Descripción Botánica:**
Arbusto espinoso de 1,5 a 3 m de altura. De hoja perenne, coriácea, elíptica a obovada, de 1,4 a 3 cm de largo y 0,5 a 1,4 cm de ancho, de borde espinoso con 4 a 6 pares de espinas, de color verde oscuro brillante en el haz y el verde claro por el envés. La inflorescencia es un racimo, con aproximadamente 10 flores anaranjadas, de 4,5 a 7 mm de largo.
- **Fruto:**
Es una baya subglobosa de color azul oscuro, de 7 a 8 mm, estilo persistente, y contiene 3 a 6 semillas. Las antocianinas más relevantes delphinidina 3-glucósido, petunidina 3-glucósido y malvidina 3-glucósido.
- **Uso farmacéutico popular:**
Los frutos son comestibles, el tallo y las hojas presentan alcaloides (berberina). Su hoja y fruto se usan en la medicina ancestral como antipiréticos y antiinflamatorios.
- **Otros usos:**
Elaboración de mermeladas, salsas, jarabes.

Calafatillo

El calafatillo (*Berberis empetrifolia* Lam) conocido también como calafate enano, zarcilla, monte negro o uva de la cordillera, se clasifica como un sub-arbusto nativo presente en Chile y Argentina; se distribuye en vertientes de la Cordillera de los Andes, desde los 30° Lat. Sur (por encima de los 3.500 metros), desde Mendoza a la Patagonia alcanzando la zona litoral del Estrecho de Magallanes y Tierra del Fuego (Landrum, 1999; Bottini *et al.*, 2000; Domínguez, 2012).

La caracterización química del fruto de calafatillo (localidad de Isla Riesco, región de Magallanes), durante dos temporadas, mostró menor contenido de sólidos solubles (18°Brix) que el fruto de calafate (26°Brix) y el de maqui (30°Brix). Por otra parte, la relación entre antocianinas totales/polifenoles totales del calafatillo (1,1); fue similar al fruto de maqui (1,2) y superior al de calafate (0,9). En términos de antocianinas totales, no obstante que mostraron valores similares, el perfil de antocianinas es muy distinto (Mc Leod *et al.*, 2020). En calafatillo, las antocianinas reportadas en orden de relevancia son delfinida-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, malvidina-3-glucósido, y luego otras del tipo petunidinas y cianidinas. Es importante destacar, que la sumatoria de antocianinas asociadas al color azul, del tipo malvidina (3-glucósido+3-rutinósido), supera el contenido de petunidina-3-glucósido en este fruto. En calafate y similarmente, las antocianinas predominantes son delfinida-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, y malvidina-3-glucósido, pero están presentes en mayor concentración en el fruto. Es importante analizar, que extractos de berries nativos, con un perfil similar de antocianinas, han sido asociados a inhibición del estrés oxidativo y disminución de la inflamación que ocurre por la interacción patagénica entre adipocitos y macrófagos (Reyes-Farías *et al.*, 2015, 2016), detalles son explicados en el punto 3.2 del capítulo 3, por el Dr. García-Díaz.

Los pueblos originarios complementaban su dieta con estos frutos para aliviar ciertas dolencias digestivas (Schmeda-Hirschmann *et al.*, 2019). Además, en calafatillo se ha reportado bermamina y oxiacantina en raíces y de berberina tanto en raíces como en hojas (Fajardo *et al.*, 1981; Fajardo Morales *et al.*, 2021). En la **Tabla 6.2** y **Figura 6.7** se compara y evalúa la actividad antioxidante y antocianinas respecto al calafate, maqui y frutales conocidos como el arándano entre otros.

- **Nombre común:**
Calafatillo
- **Nombre científico:**
Berberis empetrifolia Lam
- **Familia:**
Berberidaceae
- **Fecha de Floración:**
Noviembre a febrero
(Magallanes).
- **Fecha de Fructificación:**
Enero a marzo (Magallanes).



- **Breve Descripción Botánica:**
El calafatillo se diferencia particularmente del calafate y el michay porque es un arbusto enano, rastrero, espinoso, con una altura que no supera los 15 a 20 cm de altura. A menudo crecen como plantas aisladas. Sus ramas siempre glabras, de color castaño claro a rojo vinoso. Esta especie también desarrolla pequeñas espinas, dispuestas de a 3 unidades con ángulos muy abiertos, de color castaño claro, glabras, brillantes, curvadas a veces hacia el ápice, punzantes, profundamente surcadas en la cara inferior. Sus hojas son completamente diferentes al calafate y al michay, son acículas en fascículos de 8 a 10, coriáceas, mucronadas y subsésiles.
- **Fruto:**
Es una baya comestible color azul intenso, de sabor agridulce, con hasta 8 semillas.
- **Uso farmacéutico popular:**
Los frutos eran recolectados por los pueblos originarios (Añikenk, Selk'nam, Kawéskar, Yagan y Haush.) que habitaron la Patagonia Austral, para complementar su dieta para aliviar ciertas enfermedades y dolencias digestivas.
- **Otros usos:**
Si bien es un fruto comestible, es poco consumido porque crece en sectores alejados del radio urbano y porque el pequeño tamaño de su fruto dificulta su recolección.

Canelo

El Canelo (*Drimys winteri*) es un árbol originario de América del sur, endémico de los bosques subantárticos de Chile y Argentina. Es un árbol considerado sagrado por los pueblos originarios y que se asocian a múltiples propiedades beneficiosas. En Chile crece desde la provincia de Limarí (quebrada Camarones 30°20'S; 71°26'O, al norte del Parque Nacional Fray Jorge) hasta la provincia Antártica (Isla Hornos, Archipiélago Cabo de Hornos 55°58'S; 67°17'O), y es especialmente abundante en la Isla de Chiloé. Para el canelo continental se han descrito dos especies, *Drimys andina* (Reiche) R. A. Rodr. & Quezada, conocido como Canelo enano (arbusto endémico que crece entre las regiones de Biobío a Los Lagos) y *Drimys winteri* J.R. Forst. & G. Forst.

Esta última tiene dos variedades botánicas (Rodríguez, 1998; Ruiz *et al.*, 2008; Muñoz *et al.*, 2021): *Drimys winteri* var *chilensis* (DC.) endémica de Chile, y *Drimys winteri* var *winteri* una especie nativa que crece en Chile y Argentina. La var. *chilensis* crece desde la provincia de Limarí (quebrada Camarones 30°20'S; 71°26'O) hasta la provincia de Aysén (Río Exploradores 46°25'S; 73°20'O, Región de Aysén). La presencia de esta especie aumenta progresivamente desde Coquimbo al sur, en zona semiáridas crece asociada a cursos de agua, como es el caso del río Limarí y microclimas (Doust, 2001; Muñoz *et al.*, 2021).

Los beneficios del canelo están asociados principalmente a su corteza por sus propiedades tónicas y antiescorbúticas (Salehi *et al.*, 2021), pero se conoce poco del fruto y sus propiedades. En **Tabla 6.2** y **Figura 6.7** se compara el fruto del canelo respecto al maqui y calafate, entre otros.

-
- **Nombre común:**
Canelo
 - **Nombre científico:**
Drimys winteri J.R. et G. Forster
 - **Familia:**
Winteraceae
 - **Fecha de Floración:**
Septiembre a noviembre
 - **Fecha de Fructificación:**
Marzo a abril



- **Breve Descripción Botánica:**
Árbol que puede llegar a los 20 m de altura, las hojas se caracterizan por ser aromáticas, simples, alternas, de forma oblonga o lanceoladas, haz de color verde pálido y envés grisáceo blanquizco. Las flores son hermafroditas, de color blanco (6 a 15 pétalos), pueden ser solitarias o agruparse en inflorescencias.
 - **Fruto:**
Es una baya globosa ovoide, color violeta oscuro, de 1cm de diámetro, con 5-8 semillas negras y lisas, de 3 a 5 mm.
 - **Uso farmacéutico popular:**
Su corteza es lisa, de color gris claro, gruesa y suave, ampliamente valorada por sus propiedades tónicas y antiescorbútcas, así los nativos del Estrecho de Magallanes y los marinos bebían la infusión de esta corteza, como un potente antiescorbútcico
 - **Otros usos:**
Se usan en infusión para combatir tos y catarros, parasitosis (lombrices), desórdenes estomacales, disentería y dolores reumáticos
-

6.3 Actividad antioxidante, antocianinas y de color de tres especies del género *Berberis* y canelo

La **Figura 6.7** muestra la actividad antioxidante de algunos frutales nativos evaluados en INIA respecto a berries más conocidos como el arándano rojo (cranberry), el arándano (blueberry) y el maqui. Los resultados ratifican que el fruto de calafate tiene una alta actividad antioxidante (>400 $\mu\text{moles Trolox/g}$ fruto seco, **FRAP**), similar al maqui e incluso un poco más alta. La diferencia está en el perfil de antocianinas porque el maqui tiene mayor concentración de delphinidinas que el calafate. El calafatillo tiene una actividad antioxidante de 292 $\mu\text{mol Trolox/g}$. fruto seco, valor superior al michay y a otros como el cranberry y arándano, incluso que zarzaparrilla negra (Pérez *et al.*, 2020); la actividad antioxidante del calafatillo fue superado sólo por el calafate, el maqui y el sauco. Por otra parte, el fruto del michay tiene menor actividad antioxidante (180 a 200 $\mu\text{moles Trolox/g}$ fruto seco) que el calafate, maqui, sauco y calafatillo. Es importante destacar que el fruto del canelo, con actividad antioxidante de 264 $\mu\text{moles Trolox/g}$. fruto seco, es interesante porque su perfil de compuestos bioactivos es muy distinto al fruto del maqui y del calafate, aportando Vitamina C y otros flavonoides. Además, destaca por sus propiedades antiescorbúticas y otras previamente reportadas (Pérez *et al.*, 2020; Salehi *et al.*, 2021).

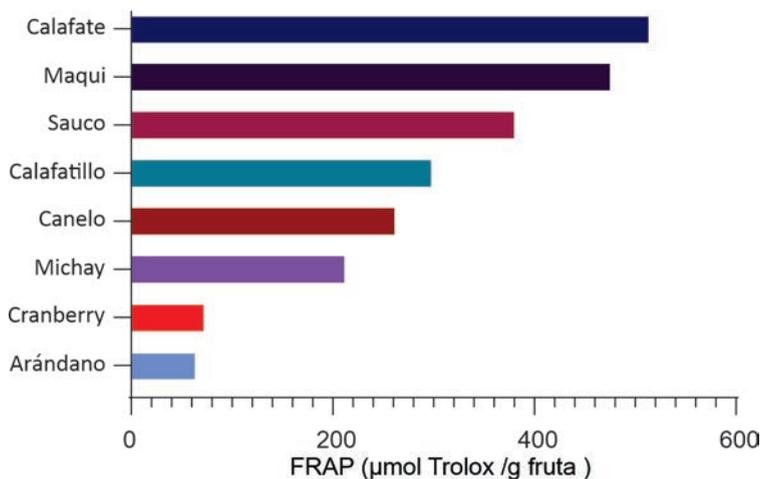


Figura 6.7. Actividad antioxidante de frutos de calafate, calafatillo, michay, canelo, maqui y sauco, respecto al arándano rojo (cranberry) y arándano (blueberry), según método FRAP expresado como $\mu\text{mol Trolox}$ equivalentes por gramo base peso seco liofilizado.

Es importante destacar, que la actividad antioxidante (expresada en **FRAP**) tuvo una alta asociación con las antocianinas totales (**AT**) de 0,86 y con los polifenoles totales (**PFT**) de 0,84 en base a peso seco de los frutos (ver **Tabla 6.2**). El sauco (*Sambucus nigra*) es un fruto también alto en antioxidantes luego del calafate y el maqui (**Figura 6.7**) y alto en antocianinas, del tipo cianidina-3-glucósido (C3G), que no sólo es reconocido por su capacidad antioxidante, además porque neutralizaría la infección del virus de la influenza, bloqueando la acción de dos proteínas claves en el proceso de replicación del virus dentro de la célula huésped: la hemaglutinina y la neuraminidasa (Torabian *et al.*, 2019), jugo concentrado de sauco también se usa como un colorante natural.

Tabla 6.2. Matrix de correlaciones entre AT, PFT, FRAP y M.S. (%), S.S. (°Brix), y Color (E1%) en frutos de calafate (selección TDF), maqui, calafatillo (selección IR), michay (varias localidades), y canelo (Peralillo).
Analizado con *GraphPad Prism versión 9.3.0*.

	S.S. (°Brix)	E1 (%)	AT peso seco	PFT peso seco	M.S. (%)	AT peso fresco	PFT peso fresco	FRAP peso fresco	FRAP peso seco
S.S. (°Brix)	1,00								
E1 (%)	0,42	1,00							
AT peso seco	-0,30	0,61	1,00						
PFT peso seco	-0,25	0,52	0,89	1,00					
M.S. (%)	0,68	0,20	-0,35	-0,38	1,00				
AT peso fresco	0,33	0,56	0,49	0,32	0,63	1,00			
PFT peso fresco	-0,03	0,41	0,70	0,87	0,02	0,56	1,00		
FRAP peso fresco	0,51	0,45	0,32	0,26	0,70	0,93	0,59	1,00	
FRAP peso seco	-0,08	0,51	0,86	0,84	-0,39	0,36	0,70	0,36	1,00

Los frutos de maqui y michay (localidades de Codao, Lolol y Talca) destacaron por su alta concentración de sólidos solubles (33°Brix), ver **Tabla 6.3**. En general, aquellos frutales con mayor concentración sólidos solubles (°Brix) y materia seca, son los más deseables para generar productos liofilizados o concentrados porque requerirán menos energía para extraer el agua y se obtendrá mayor concentración de antioxidantes por volumen procesado. El fruto de calafate mostró mayor concentración de AT (54,24 mg eq.C3G/g. fruto seco) y color (3,4 E1%), valor muy

Tabla 6.3. Caracterización química del fruto de calafatillo, michay y canelo comparados con calafate y maqui (predio comercial) para las cosechas 2019 y 2020.

Especie	AT (mg C3G/g. peso seco)	Punto color (E1%)	PFT (mg EAG/g. peso seco)	Sólidos solubles (° Brix)
Calafate TDF (Control)*	54,24a	3,40a	59,05a	26,85b
Maqui (Control)*	32,69bc	2,62b	26,53c	33,07a
Calafatillo (Selección IR)	38,90b	2,33b	32,77b	17,87c
Michay (Codao)	11,33f	1,70c	6,07c	33, 50a
Michay (Lolol)	30,87c	2,57b	8,10c	33,40a
Michay (Talca)	17,13ef	2,83ab	5,20c	33,67a
Michay (Leyda)	27,27cd	1,73 c	31,40b	27,93b
Canelo (Peralillo)	23,00de	1,00d	7,67c	17,00c

Donde, **Antocianinas totales (AT)** se determinaron por el método de pH-diferencial en base a mg equivalentes de Cianidina-3-Glucósido por gramo de fruto fresco (espectrofotómetro Jasco V-700). **Punto de color (E1%)**, concentración de color evaluada como el valor del coeficiente de extinción de una solución coloreada al 1% a longitud de onda de máxima absorbancia 520 nm. Los **polifenoles totales (PFT)**, se determinaron por el método Folin-Ciaocalteu, expresado como mg EAG/peso de fruto. Los **sólidos solubles** (° Brix) en fruta fresca se evaluaron con refractómetro digital (Hanna HI 96801).

El análisis estadístico incluyó ANDEVA y test de Tukey (P<0,05) (INFOSTAT versión 04/30/2020)

superior al de la zanahoria morada (<1,0 E1%) considerada una reconocida fuente de antocianinas para la extracción de colorantes naturales (ver capítulo 5). Luego, en términos de AT, siguió el maqui (32,69 mg C3G/g. de fruto seco) y el michay con valores entre 11 y 30 mg C3G/ g. fruto seco, dependiendo de la localidad.

En el perfil de antocianinas del calafate destacan delfinida-3-glucósido (>35%), petunidina-3-glucósido o malvidina-3-galactósido (30%), y malvidina-3-glucósido (15%). El perfil de antocianinas mostró los mayores picks en delfinidina 3-glucósido, petunidina 3-glucósido y malvidina 3-glucósido (Reyes-Farias *et al.*, 2016; Pino *et al.*, 2019). El calafate ha sido uno de los frutos nativos más investigados, después del maqui y la murtilla. Estudios recientes *in vivo* en ratones han mostrado que extractos de los frutos de calafate estimulan el gasto energético, la termogénesis y la dinámica mitocondrial en tejido adiposo (Ramírez *et al.*, 2021). Además, se ha demostrado que restaura la tolerancia a glucosa en ratas

obesas (Soto-Covasich *et al.*, 2020). Estudios previos, *in vitro* en células humanas y también *in vivo* (ratas), mostraron que los extractos de fruto de calafate rico en polifenoles modulan respuestas antiinflamatorias en adipocitos (Reyes-Farías *et al.*, 2015, 2016). Recientemente, López *et al.* (2021) resumieron las propiedades saludables del calafate y potenciales funciones protectoras contra el cáncer y enfermedades cardiovasculares. Más antecedentes de su efecto antioxidante se entregan en el capítulo 3 de esta publicación.

Análisis proximal del calafate, calafatillo, michay y canelo

En la **Tabla 6.4** se resume la composición química proximal de fruta fresca de calafate, michay, calafatillo y canelo. Respecto al aporte de calorías, el consumo de 100 gramos de fruta fresca del michay y calafate aportaría cerca de 100 Kcal respectivamente. El calafatillo (63 Kcal) y canelo (52 Kcal) tienen menor aporte

Tabla 6.4. Análisis proximal y fibra dietaria de fruta fresca de calafate, calafatillo, michay y canelo (Fuente: elaborado a partir de Pino *et al.*, 2018, 2019; Pérez *et al.*, 2020; Mc Leod *et al.*, 2020).

Análisis en fruta fresca	Calafate	Calafatillo	Michay	Canelo
Energía (Kcal/100g)	98,5	62,6	107	51,6
Humedad (%)	75,9	71,3	47,5	75,6
Hidratos de carbono disponibles (%)	14,5	12,0	19,9	11,1
Azúcares totales (%)	9,8	7,3	9,9	10,6
Proteínas (%)	2,8	3,2	6,4	1,8
Materia Grasa (%)	0,9	0,2	0,2	<0,5
Cenizas (%)	0,6	1,0	1,7	0,6
Sodio (mg/100g)	-	2*	36,2	18,3
Fibra Dietaria Total (%)	5,3	12,3	24,3	10,9
Fibra Dietaria soluble (%)	0,75	9,1	11,2	2,2
Fibra Dietaria insoluble (%)	4,55	3,2	13,1	8,7

Análisis fueron realizados en Eurofins en 2020 usando frutos fresco empleado en el resto de los análisis. Detectado bajo límite de cuantificación. LoQ: 2mg/100g. LoD:0,5mg/100g.

¹Calafate fruto fresco (selección INIA) región de Magallanes y la Antártica Chilena,

²Calafatillo fruto fresco (selección INIA) región de Magallanes y la Antártica Chilena.,

³Michay fruto fresco, sector Leyda, región de Valparaíso,

⁴Canelo fruto fresco, sector Peralillo, región de O'Higgins.

calórico, más cercano al arándano (57 Kcal/100 gramos de fruta fresca). El aporte de fibra dietaria es de gran interés, debido a que estudios epidemiológicos han demostrado consistentemente los beneficios de la fibra dietética en la salud gastrointestinal, y en el control de peso por la sensación de saciedad que genera (Gill *et al.*, 2021). Los frutales nativos chilenos destacan por su alto contenido de fibra respecto al arándano (2,4%) y açai (<4%). El michay muestra el mayor aporte calórico y de fibra, con un 11,2% de fibra dietaria soluble y 13,1% de fibra dietaria insoluble (ver **Figura 6.8**).

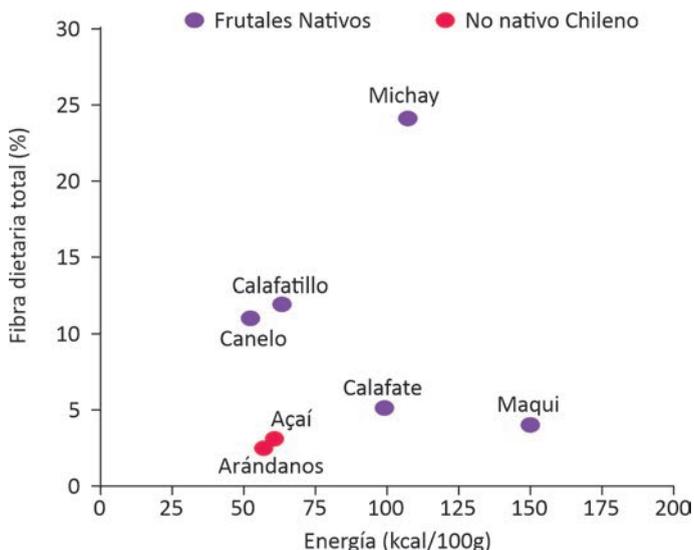


Figura 6.8. Fibra dietaria total *versus* aporte calórico (en Kcal que aporta 100 gramos de fruta fresca) de distintos frutos nativos chilenos respecto al arándano y el açai.

En términos de aporte de proteínas (1,8 a 6,4%), los valores del michay y del calafatillo son interesantes, porque el coco “fruta más alta en proteínas” tiene un valor de 3,3%, y la arveja un 5%, ambos como porcentaje de proteínas en base a 100 gr peso fresco. Respecto a la materia grasa siempre el aporte en este tipo de frutos es bajo (<0,9%), como referencia el arándano no tiene grasas (0%) ni proteínas (0%) ([http://www.todoalimentos.org /arandanos/](http://www.todoalimentos.org/arandanos/)).

En la **Tabla 6.5** y **Figura 6.9** se muestra el portafolio de productos de calafate, porque INIA además de seleccionar clones altos en rendimiento y antioxidantes, ha trabajado en la extracción de un colorante natural en formato líquido y formato

polvo altamente concentrado (**Figura 6.9A**), lo cual es distinto a un liofilizado. Es importante destacar que hace años, se consume y comercializan varios sub productos elaborados a partir de calafate, como mermeladas, syrups, té y liofilizados (**Figura 6.9B**).

Tabla 6.5. Resumen del portafolio de ingredientes y productos desarrollados en base al fruto de calafate en el POLO COLORANTES PYT-2017-0488.

Materia Prima	Producto del Portafolio	Etapa
Calafate	Extracto líquido de calafate alto en antioxidantes 60° Brix y 4 puntos de color. Uso colorante y antioxidante	Producto etapa pre-comercial
	Extracto de calafate como polvo (Spray Dried) estabilizado como colorante y antioxidante. Uso colorante natural.	Producto en desarrollo
Otros berries nativos	Extractos desde berries silvestres para colorantes altos en antioxidantes con potencial de domesticación	Producto en evaluación técnica



Figura 6.9. Extracto de calafate (Clon INIA) concentrado en formato líquido a 60°Brix y 4.0 E1% puntos de color (A). Productos comercializados en el mercado nacional e internacional a partir de calafate recolectado entre las regiones de Aysén y Magallanes (B) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Conclusión

Los frutales nativos presentes en el país poseen características interesantes y diferenciadoras, las cuales otorgan una oportunidad de nuevos mercados en el sector de la industria de los alimentos, farmacéutica y dermocosmética. Sin embargo, su entrada al mercado europeo está limitado por la reglamentación de los novel food al inicio expuestas. En el caso del fruto del calafate, éste posee una alta actividad antioxidante, incluso superior a la del fruto de maqui. Los frutos colectados en el presente estudio desde la región de Ñuble al sur destacan por su color, perfil de antocianinas, en especial en la distribución de delfinidinas, petunidinas y malvidinas. En la actualidad, existen varios productos derivados del calafate disponibles en el mercado, como por ejemplo, mermeladas, syrups, jugos y liofilizados, fáciles de incorporar en la dieta de los chilenos. Por otra parte, el michay en sus distintas especies (*Berberis chilensis*, *Berberis vadiviana* y *Berberis darwinii*), además de presentar alta actividad antioxidante, un perfil interesante de antocianinas y proteínas, se destaca, comparativamente con otros *Berberis*, por su amplia distribución en el territorio chileno entre la región de Coquimbo hasta la Patagonia. El calafatillo también es una especie del género *Berberis*, alto en compuestos antioxidantes, superando a la mayoría de los berries cultivables. Su color y actividad antioxidante son interesantes en la industria de alimentos. Sin embargo, su escasa disponibilidad real de materia prima y su heterogénea distribución, limita su colecta silvestre. Respecto al fruto del canelo, es una alternativa interesante respecto a otros frutos, diferenciándose por ser un fruto de un color distinto a las especies del género *Berberis* y alto en polifenoles, surgiendo como una nueva opción para la ingesta de antioxidantes, pero además con reconocidas propiedades antiescorbúticas.

Si bien, se cuenta con estudios de caracterización de algunos de estos frutales nativos e incipientes trabajos en domesticación, salvo el maqui. Se requiere una mayor priorización en I+D+i, que permitan aunar esfuerzos conjuntos entre el sector público y el privado, para acelerar el desarrollo de estos frutales y consecuentemente proyectarlo en distintos mercados, así como se hizo con el açai en Brasil.

Literatura Citada

- Bottini, M. C., Orsi, M. C., Greizerstein, E. J., & Poggio, L. (1998). Relaciones fenéticas entre las especies de *Berberis* (*Berberidaceae*) del noroeste de la Región Patagónica. *Darwiniana*, 115-129.
- Bottini, M. C. J., Greizerstein, E. J., Aulicino, M. B., & Poggio, L. (2000). Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NW Patagonian species of *Berberis* L. (*Berberidaceae*). *Annals of Botany* 86(3), 565-573.
- Bottini, M. C. J., De Bustos, A., Sanso, A. M., Jouve, N., & Poggio, L. (2007). Relationships in Patagonian species of *Berberis* (*Berberidaceae*) based on the characterization of rDNA internal transcribed spacer sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 153(3), 321-328.
- Coherent Market Insights (2020). Processed superfruits market analysis 2020-2027. <https://www.coherentmarketinsights.com/market-insight/processed-superfruits-market-3956> (Último acceso noviembre 2021).
- Domínguez, E. (2012). Flora Nativa Torres del Paine Santiago, Ocho Libros Editores, 1ª edición. 344 pp. <https://es.scribd.com/document/369024331/Dominiguez-2012-Flora-Nativa-Torres-Del-Paine>.
- Doust, A. N. (2001). The developmental basis of floral variation in *Drimys winteri* (*Winteraceae*). *International Journal of Plant Sciences* 162(4), 697-717.
- Fajardo, V., Prats, C., & Garrido, M. (1981). Metabolitos secundarios de *Berberis empetrifolia*. *Contribuciones científicas y tecnológicas* (51). Área Química XVIII.
- Fajardo Morales, V., Araya, M., & Manosalva, L. (2021). *Berberis darwinii* Hook. In *Medicinal and Aromatic Plants of South America* 2,127-133. Springer, Cham.
- Gill, S. K., Rossi, M., Bajka, B., & Whelan, K. (2021). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 18(2), 101-116.

- IICA (2018). Protocolos estandarizados para la valorización de frutos nativos del PROCISUR frente a la creciente demanda por ingredientes y aditivos especializados (carotenoides, antocianinas y polifenoles). Editores M.T.Pino, E. Domínguez, J. Saavedra. ISBN: 978-92-9248-793-5. Programa Cooperativo para el Desarrollo Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur. Uruguay: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 45p. http://www.procisur.org.uy/adjuntos/procisur_libro_valorizaciondefrutosnativos_7c7.pdf
- Landrum, L. (1999). Revision of *Berberis* (Berberidaceae) in Chile and Adjacent Southern Argentina. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86(4), 793-834.
- López, J., Vera, C., Bustos, R., & Florez-Mendez, J. (2021). Native berries of Chile: A comprehensive review on nutritional aspects, functional properties, and potential health benefits. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(2), 1139-1160.
- Market Data Forecast (2021). Global Processed Superfruits Market. <https://www.marketdataforecast.com/market-reports/processed-superfruits-market> (Último acceso noviembre 2021).
- Mc Leod, C., Pino, M.T., Zamora O., Vergara, C., Dominguez, E., & Águila, K. (2020). Calafatillo: otra especie del género *Berberis* alta en antioxidantes. Informativo INIA La Platina N°42, en <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR42034.pdf>.
- Muñoz, O., Tapia-Merino, J., Nevermann, W., & San-Martín, A. (2021). Fitoquímica y propiedades biológicas de *Drimys winteri* JR et G. Forster var *chilensis* (DC) A. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 20(5), 443-462.
- ODEPA (2021). Boletín interactivo Boletín de fruta, noviembre 2021. <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiYmMzZDRlYjktZTdjNy00MmZiLWJkMmQtZDlkNGJkYjQ4NTU2liwidCI6IjMzYjdmNzA3LTZlNmYtNDJkMi04ZDZmLTk4YmZmOWZiNWZhMCIsmMiOjR9> (Último acceso noviembre 2021).
- Ojeda, A., Hirzel, J., Pino, M.T., Mc Leod, C., & Águila, K. (2017). Composición y evolución nutricional del calafate en la región de Magallanes. Informativo INIA Kampenaike. N°68, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4680>.

- Pérez, R., Pino, M.T., Vergara, C., Zamora, O., Domínguez, E., & Álvarez, F. (2020). Canelo: un árbol alto en metabolitos saludables amenazado por el cambio climático. Informativo INIA La Platina N°40, en <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR41929.pdf>.
- Pino, M. T., Zamora, O., Mc Leod, C., Águila, K., Ojeda, A. & Vergara, C.(2018). Calafate: propiedades del fruto y su potencial como ingrediente. Informativo INIA Kampenaike. N°78, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4879>.
- Pino, M.T., Pérez, R., Vergara, C., Zamora, O. & Domínguez, E. (2019). MICHAY: Berry nativo de amplia distribución con metabolitos de interés para la industria de alimentos. Informativo INIA La Platina. N°39, en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/4952>.
- Ramirez, L. A., Quezada, J., Duarte, L., Concha, F., Escobillana, L., Rincon-Cervera, M. A., ... & Garcia-Diaz, D. F. (2021). The administration of an extract from *Berberis microphylla* stimulates energy expenditure, thermogenesis and mitochondrial dynamics in mice brown adipose tissue. *Food Bioscience* 41, 100988.
- Reyes-Farías, M., Vasquez, K., Ovalle-Marin, A., Fuentes, F., Parra, C., Quitral, V., ... & Garcia-Diaz, D. F. (2015). Chilean native fruit extracts inhibit inflammation linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *Journal of medicinal food* 18(5), 601-608.
- Reyes-Farías, M., Vasquez, K., Fuentes, F., Ovalle-Marin, A., Parra-Ruiz, C., Zamora, O., ... & Garcia-Diaz, D. F. (2016). Extracts of Chilean native fruits inhibit oxidative stress, inflammation and insulin-resistance linked to the pathogenic interaction between adipocytes and macrophages. *Journal of Functional Foods* 27 69-83.
- Rodríguez S. 1998. Antecedentes tecnológicos de Canelo (*Drimys winteri* Forst.). *Bosque* 19, 91- 99. <https://doi.org/10.4206/bosque.1998.v19n1-10>.
- Ruiz E, Toro O, Crawford DJ, Stuessy TF, Negritto MA, Baeza C, Becerra J. 2008. Phylogenetic relationships among Chilean species of *Drimys* (Winteraceae) based on its sequences and insertion/deletion events. *Gayana Bot* 65, 220-228. <https://doi.org/10.4067/s0717-66432008000200008>.

- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Herrera-Bravo, J., Salazar, L. A., Delporte, C., Barra, G. V., ... & Martorell, M. (2021). Ethnopharmacology, Phytochemistry and Biological Activities of Native Chilean Plants. *Current Pharmaceutical Design* 27(7), 953-970.
- Scheuermann, E. (2015). "Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) y açai (*Euterpe oleracea* Mart.): recursos nativos para alimentos funcionales o productos con propiedades saludables", presentación en <https://docplayer.es/45268930-Murtilla-ugni-molinae-turcz-frutos-con-caracteristicas-antioxidantes-para-la-industria-de-alimentos.html>.
- Schmeda-Hirschmann, G., Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., & Ladio, A. (2019). Patagonian berries as native food and medicine. *Journal of ethnopharmacology* 241, 111979.
- Soto-Covasich, J., Reyes-Farías, M., Torres, R. F., Vásquez, K., Duarte, L., Quezada, J., ... & García-Díaz, D. F. (2020). A polyphenol-rich Calafate (*Berberis microphylla*) extract rescues glucose tolerance in mice fed with cafeteria diet. *Journal of Functional Foods* 67 103856.
- Torabian, G., Valtchev, P., Adil, Q., & Dehghani, F. (2019). Anti-influenza activity of elderberry (*Sambucus nigra*). *Journal of functional foods* 54, 353-360.

Publicación desarrollada en el marco del Proyecto PYT-2017-0488 "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile", con apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y el Fondo de Inversión Estratégica (FIE). Ejecutado por INIA La Platina y coejecutores.

Autores:

- **María Teresa Pino**
INIA La Platina
- **Cristina Vergara H.**
INIA La Platina
- **Francisco Rossier M.**
Transforma Alimentos
- **Olga Zamora V.**
INIA La Platina
- **Ana María Sandoval V.**
INIA Carillanca
- **María Pilar Almajano**
Universidad de Cataluña, España
- **Diego García D.**
Facultad de Medicina Universidad de Chile
- **Carolina Astudillo C.**
Escuela de Alimentos Pontificia
Universidad Católica de Valparaíso
- **María Ximena Quintanilla**
Universidad de La Sabana, Colombia
- **Izabela Dutra Alvim**
Instituto de Tecnología de Alimentos
(ITAL), Brasil
- **Elizabeth Kehr M.**
INIA Carillanca
- **María Jesús Greve V.**
INIA Carillanca (hasta octubre 2020)
- **Luis Inostroza F.**
INIA Quilamapu
- **Julio Kalazich B.**
INIA Remehue (hasta diciembre 2018)
- **Marco Uribe G.**
INIA Remehue
- **Manuel Muñoz D.**
INIA Remehue
- **Ricardo Pérez D.**
INIA La Platina (hasta marzo 2020)
- **Francisco Álvarez M.**
INIA La Platina
- **Claudia Mc Leod B.**
INIA Kampenaiké
- **Erwin Domínguez D.**
INIA Kampenaiké
- **Karina Águila M.**
INIA Kampenaiké



Liderando la agrociencia para un futuro sostenible

Boletín INIA / N° 455

www.inia.cl

