

# Impacto del uso de aquafaba en la microencapsulación de vitamina D3 mediante gelificación iónica<sup>1</sup>

Impact of Aquafaba Use on the Microencapsulation of Vitamin D3 via Ionic Gelation

Página | 1

Impacto do Uso de Aquafaba na Microencapsulação de Vitamina D3 por Gelificação Iônica

Sebastián J. Flores Mamani<sup>\*2</sup>, Sergio Benavides-Valenzuela<sup>\*\*3</sup>, Marcela Jarpa-Parra<sup>\*4</sup>

Universidad Adventista de Chile<sup>\*</sup>, Universidad San Sebastián<sup>\*\*</sup>

Fecha de Recepción: 15-1-2025. Fecha de Aceptación: 20-6-2025

Autor de correspondencia: Marcela Jarpa-Parra, [marcelajarpa@unach.cl](mailto:marcelajarpa@unach.cl)

## Cómo citar:

Flores M., S. J.; Benavides-Valenzuela, S. y Jarpa-Parra, M. (2025). Impacto del uso de aquafaba en la microencapsulación de vitamina D3 mediante gelificación iónica. *Revista Científica Cuadernos de Investigación*, 3, e47, 1-20. <https://doi.org/10.59758/rcci.2025.3.e47>

## Resumen

**Introducción:** La vitamina D, esencial para la salud humana, enfrenta problemas de estabilidad y biodisponibilidad cuando se incluye en matrices alimentarias. Este estudio explora la microencapsulación de vitamina D3 mediante gelificación iónica, utilizando emulsiones de alginato de sodio con agua o aquafaba como fase acuosa. **Objetivo:** Comparar el impacto del uso de agua y aquafaba en la eficiencia de encapsulación, capacidad de carga y rendimiento de las microcápsulas de vitamina D3. **Métodos:** Se produjeron microcápsulas mediante gelificación iónica, variando el tipo de fase acuosa y la proporción fase acuosa:oleosa (1:1 y 4:1). Se evaluaron características físicas, como tamaño y forma, y parámetros funcionales, como eficiencia de encapsulación (EE), capacidad de carga (LC) y rendimiento (Y). **Resultados:** La EE fue significativamente mayor con aquafaba (96%-97.7%) comparada con agua (84.7%-91%). Aunque la LC no varió significativamente (12%-14%), el rendimiento con aquafaba fue más consistente (>79%). Las microcápsulas basadas en aquafaba mostraron superficies lisas y uniformes, mientras que las de agua presentaron signos de desintegración en ciertos tratamientos. **Conclusión:** La aquafaba mejora la EE y el rendimiento, destacando su potencial como alternativa funcional al agua en la encapsulación. Se requieren

<sup>1</sup> Copyright: © 2025, Flores, Benavides-Valenzuela y Jarpa-Parra. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo la licencia **Creative Commons de Atribución No Comercial 4.0**. Permite su uso sin restricciones, su distribución y reproducción por cualquier medio, siempre que no se haga con fines comerciales y el trabajo original sea fielmente citado.

<sup>2</sup> <https://orcid.org/0009-0006-4514-9142>

<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4099-2310>

<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2104-7628>

estudios adicionales para profundizar en las interacciones proteicas y los mecanismos de liberación de vitamina D3 encapsulada.

**Palabras clave:** microencapsulación, aquafaba, gelificación iónica, garbanzo, Alfa-INIA

## Abstract

Página | 2

**Introduction:** Vitamin D, essential for human health, faces challenges in stability and bioavailability when incorporated into food matrices. This study explores the microencapsulation of vitamin D3 via ionic gelation using sodium alginate emulsions with water or aquafaba as the aqueous phase. **Objective:** To compare the impact of water and aquafaba on the encapsulation efficiency, loading capacity, and yield of vitamin D3 microcapsules. **Methods:** Microcapsules were produced through ionic gelation, varying the type of aqueous phase and the aqueous-to-oil phase ratio (1:1 and 4:1). Physical characteristics such as size and shape and functional parameters like encapsulation efficiency (EE), loading capacity (LC), and yield (Y) were assessed. **Results:** EE was significantly higher with aquafaba (96%-97.7%) compared to water (84.7%-91%). While LC showed no significant differences (12%-14%), yield was more consistent with aquafaba (>79%). Microcapsules based on aquafaba exhibited smooth, uniform surfaces, whereas those using water showed signs of disintegration in certain treatments. **Conclusion:** Aquafaba enhances EE and yield, highlighting its potential as a functional alternative to water in encapsulation. Further research is needed to investigate protein interactions and the release mechanisms of encapsulated vitamin D3.

**Keywords:** microencapsulation, aquafaba, ionic gelation, Alfa-INIA, chickpea

## Resumo

**Introdução:** A vitamina D, essencial para a saúde humana, enfrenta desafios de estabilidade e biodisponibilidade quando incorporada em matrizes alimentares. Este estudo explora a microencapsulação da vitamina D3 por meio de gelificação iônica utilizando emulsões de alginato de sódio com água ou aquafaba como fase aquosa. **Objetivo:** Comparar o impacto do uso de água e aquafaba na eficiência de encapsulação, capacidade de carga e rendimento de microcápsulas de vitamina D3. **Métodos:** As microcápsulas foram produzidas por gelificação iônica, variando o tipo de fase aquosa e a proporção fase aquosa:óleo (1:1 e 4:1). Foram avaliadas características físicas, como tamanho e forma, e parâmetros funcionais, como eficiência de encapsulação (EE), capacidade de carga (LC) e rendimento (Y). **Resultados:** A EE foi significativamente maior com aquafaba (96%-97,7%) em comparação com água (84,7%-91%). Embora a LC não tenha apresentado diferenças significativas (12%-14%), o rendimento foi mais consistente com aquafaba (>79%). As microcápsulas à base de aquafaba exibiram superfícies lisas e uniformes, enquanto as de água mostraram sinais de desintegração em determinados tratamentos. **Conclusão:** A aquafaba melhora a EE e o rendimento, destacando seu potencial como uma alternativa funcional à água na encapsulação. Estudos adicionais são necessários para investigar as interações proteicas e os mecanismos de liberação da vitamina D3 encapsulada.

**Palavras Chave:** Microencapsulação, Aquafaba, Gelificação iônica, Grão-de-bico, Alfa-INIA

## Introducción

La vitamina D, una hormona esteroidea crucial para la salud metabólica y ósea, también influye en el crecimiento y desarrollo celular. Su deficiencia provoca problemas histológicos como osteoporosis y afecta el bienestar mental al interrumpir la producción de dopamina y serotonina ((Pérez-Castrillón et al., 2021; Rendón Moras, 2018; Uzcátegui, 2012). Las deficiencias globales de vitamina D (VD) son prevalentes, especialmente entre los adultos mayores, lo que conlleva problemas de salud graves (Irazoqui et al., 2015).

Existen varios tipos de vitamina D bioactiva: ergocalciferol (D2), colecalciferol (D3), calcitriol y ácido calcitroico. La principal fuente de vitamina D es la radiación UV-B del sol, a través de la cual más del 90 % se produce mediante procesos cutáneos. El 10 % restante proviene de alimentos naturales de origen animal, como pescado, productos lácteos y huevos (Juzeniene & Moan, 2012; Maurya et al., 2020). El acceso a fuentes nutricionales de vitamina D ha disminuido con el tiempo, lo que ha provocado la aparición de enfermedades asociadas a su deficiencia (Aguilar-Shea, 2021; Maurya et al., 2020).

Muchos países han informado que aproximadamente el 50 % de su población presenta deficiencia de vitamina D, y Chile no es una excepción (Lavelli et al., 2021). En la Encuesta Nacional de Salud (ENS) realizada entre 2016-2017, se encontró que el 36 % de las mujeres chilenas en edad fértil (15 a 49 años) y el 59 % de los hombres mayores presentaban distintos grados de deficiencia de vitamina D (Troncoso-Pantoja et al., 2020). Por otro lado, un estudio realizado por Arazo-Rusindo et al., (2022) indicó que el 88 % de la población chilena mayor de 75 años tenía déficits extremos de vitamina D, a pesar de consumir alimentos fortificados. Además, el acceso a la luz solar puede estar considerablemente reducido, especialmente en las zonas del sur (o boreales en el hemisferio norte) [Maurya et al., 2020].

Para reducir el problema de la hipovitaminosis, se han implementado diversas formas de suministrar al organismo cantidades adecuadas de vitamina D. El método más común son los suplementos en forma de píldoras o inyecciones (Lavelli et al., 2021; Rodríguez-Huertas et al., 2019; Souza et al., 2022). Sin embargo, su administración en ese formato no es económicamente ventajosa. Además, aumenta rápidamente los niveles de vitamina D a valores adversos, generando toxicidad y produciendo síntomas como la formación de granulomas o linfomas (McCourt et al., 2020).

Una forma más adecuada de administrar vitamina D es mediante alimentos fortificados, que la incorporan de manera enriquecida (Irazoqui et al., 2015). En este sentido, existen varios estudios previos que han fortificado alimentos con vitamina D, como leche, yogurt, harinas, cereales y pan, entre otros (Jafari et al., 2019; Rodríguez-Huertas et al., 2019; Souza et al., 2022; Yeh et al., 2017). Sin embargo, la incorporación de vitamina D en una matriz alimentaria aumenta su vulnerabilidad a factores inherentes al procesamiento de alimentos, como la fuerza mecánica, acidificación, procesos térmicos y condiciones de almacenamiento. Estos factores disminuyen su bioactividad y biodisponibilidad. Una forma de incrementar la estabilidad de la vitamina D en matrices alimentarias es mediante la microencapsulación (Benavides et al., 2016).

La microencapsulación es un proceso que consiste en empaquetar un agente bioactivo dentro de una matriz biopolimérica. Esta matriz aísla y protege el bioactivo de factores ambientales adversos, preservando su bioactividad. Además, la matriz actúa como una estructura que puede regular, dentro de ciertos rangos, la ubicación y la tasa de liberación del bioactivo (Benavides et al., 2021; Emadzadeh et al., 2021). En la industria alimentaria, la microencapsulación se utiliza para preservar la calidad y mejorar la vida útil de diversos productos. Por ejemplo, ingredientes sensibles como vitaminas, probióticos y sabores pueden encapsularse para protegerlos de la degradación durante el procesamiento y almacenamiento, manteniendo así su valor nutricional y atributos sensoriales, lo que ofrece beneficios comerciales significativos (Pasin et al., 2012). Por lo tanto, los aspectos técnicos de la microencapsulación, como la elección del agente bioactivo, el tipo de matriz biopolimérica, el método de encapsulación y el perfil de liberación deseado, son determinantes críticos de su eficacia y aplicabilidad en diversos sectores (Aguero et al., 2021).

Existen dos tipos de matrices biopoliméricas: microcápsulas y microesferas. Cuando el agente bioactivo forma un núcleo dentro de la matriz, se denomina microcápsula. Por otro lado, cuando el bioactivo está finamente distribuido en toda la matriz, se trata de una microesfera (Ortiz-Romero et al., 2021). Entre los diversos métodos de microencapsulación, la gelificación iónica es un método interesante debido a su simplicidad y versatilidad (Benavides et al., 2016).

La gelificación iónica consiste en producir pequeñas partículas biopoliméricas o microcápsulas cargadas con un agente bioactivo a partir de una solución iónica o emulsión con una carga neta positiva o negativa, siendo esta última la más común (Jiménez-Villeda et al., 2023). Esta solución debe ser extruida a través de un sistema que permita que gotee sobre una solución salina de carga opuesta a la de la solución o emulsión. El contacto de la gota biopolimérica cargada con el bioactivo con la solución de carga opuesta genera un efecto de gelificación espontáneo debido a la atracción iónica, formando la microcápsula (Raus et al., 2021; Basu et al., 2018). Este método permite la producción de microcápsulas de entre 10 y 1000  $\mu\text{m}$ , dependiendo de los materiales y el rendimiento del goteo (Vallejo-Castillo et al., 2020). Las principales ventajas de la gelificación iónica son que no requiere altas temperaturas ni disolventes orgánicos (Basu et al., 2018).

Entre los biopolímeros más versátiles para la microencapsulación mediante gelificación iónica se encuentra el alginato (Donhowe et al., 2014). El alginato se ha utilizado tanto en la producción de microcápsulas como de microesferas cargadas con micronutrientes para la fortificación y/o funcionalización de diversas matrices alimentarias (Chatterjee & Bhattacharjee, 2015; Hurtado et al., 2022; Kothale et al., 2020; Ribeiro et al., 2018; Wei et al., 2024), ya que es un biopolímero de bajo costo, biocompatible y no tóxico (Can Karaca et al., 2015; Liu et al., 2017). Los biopolímeros polianiónicos, como el alginato, pueden interactuar con proteínas, generando estructuras de mayor complejidad que permiten un mayor control sobre la microarquitectura de las microcápsulas (Mustafa et al., 2018; Nesterenko et al., 2014; Shim et al., 2018). En el caso de las interacciones entre alginato y proteínas, la estructuración de microcápsulas cargadas con micronutrientes se mejora gracias al efecto emulsionante de la proteína, así como a la viabilidad de liberar el bioactivo debido a la actividad de las enzimas proteolíticas a nivel intestinal (Dehkordi et al., 2020a). Específicamente, las proteínas vegetales son atractivas para su uso debido a su bajo riesgo de priones y a sus interesantes propiedades funcionales. Varias de ellas, como las de soja, guisantes, cebada, trigo, arroz, avena y girasol, entre otras, han sido

reportadas como buenos emulsionantes (Meurer et al., 2020). El aquafaba es una solución de proteínas solubles en agua extraídas térmicamente de garbanzos. El aquafaba tiene un contenido promedio de proteínas solubles en agua del 22% (Chan, 2011). Estas proteínas en solución presentan diversas propiedades tecnológicas, entre las que destacan la capacidad espumante y emulsionante, lo que las hace atractivas para la industria alimentaria como estabilizadores de emulsiones, espumas, geles, entre otros (Hasanvand et al., 2015; Jannasari et al., 2019). Considerando estas funcionalidades, el presente estudio tiene como objetivo desarrollar y caracterizar microcápsulas de alginato y aquafaba cargadas con vitamina D, producidas mediante gelificación iónica.

## Metodología

### *Materiales*

El alginato de sodio, cloruro de calcio, hexano y otros reactivos de grado analítico fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EE. UU.). El aceite especial se compró en un mercado local. El polvo de vitamina D (D3, 100,000 UI/g) fue adquirido de Granotec Chile S.A. (Huechuraba, Santiago, Chile).

### *Preparación de aquafaba (Aq)*

Los garbanzos (*Cicer arietinum* L. var Alfa-INIA) se remojaron en agua corriente durante la noche, siguiendo el método descrito por Meurer et al., (2020). Los garbanzos remojados se drenaron y se lavaron tres veces con agua corriente. Luego, se mezclaron en una proporción de 3:1 p/p con agua desionizada (agua: grano hidratado) y se cocinaron durante 20 minutos a 100°C. Después de la cocción, el agua y los garbanzos se transfirieron a un recipiente de vidrio y se mantuvieron refrigerados a 5 °C durante 24 horas. La aquafaba (Aq) se separó posteriormente de los granos y se almacenó a -40°C hasta su uso. El contenido de proteína en Aq fue de 1.32% (p/v).

### *Preparación de emulsiones de vitamina D*

Las emulsiones de vitamina D (VD) se prepararon mezclando por separado los componentes solubles en agua y los compuestos solubles en aceite. Usando un agitador magnético (Velp Scientifica, MST, Italia), se mezclaron aceite de girasol y vitamina D (10% p/v) durante 2 horas a 200 rpm hasta disolver completamente la vitamina D (Tabla 1). Por otro lado, se disolvió alginato de sodio (0.4% p/v) en 100 ml de agua destilada (W) o aquafaba (Aq) y se añadió a la mezcla de VD-aceite. La mezcla se agitó durante 1 minuto a 1500 rpm utilizando un homogeneizador (HG-15D, marca Daihan®, DAIHAN Scientific Co. Ltd., Corea del Sur). Las emulsiones preparadas se utilizaron inmediatamente para la preparación de micropartículas. Al tener una estabilidad excelente (superior a los 45 minutos), no fue necesario utilizar ningún método para conservarlas.

### *Preparación de micropartículas*

Para la producción de micropartículas, se utilizó un sistema compuesto por una bomba de baja presión (Mitos Fluika - 32004118, Dolomite Center Ltd., Royston, Reino Unido) conectada a una botella de vidrio

presurizada de 100 mL con una salida de microtubo (diámetro interno de 250  $\mu\text{m}$ ) para fluidos (ver figura 1). El microtubo está conectado a una punta de micropipeta con un diámetro de salida de 100  $\mu\text{m}$ . La bomba de baja presión está diseñada para proporcionar aire presurizado de hasta 500 mbar y se controla mediante un software específico (MITOS FLUIKA KIT, 10.9, 2014). Las emulsiones de vitamina D obtenidas se colocaron en el contenedor presurizado y se empujaron a través del sistema a una presión constante de 185 mbar, provocando la formación de gotas en un recipiente de vidrio que contenía una solución de cloruro de calcio. En una etapa preliminar del estudio, se utilizaron soluciones de cloruro de calcio a una concentración de 0.4% p/v para provocar la gelificación y formar las microcápsulas cargadas con VD. La punta de la micropipeta se posicionó a 0.5 mm por encima de la superficie del cloruro de calcio. Durante las pruebas, la solución gelificante se agitó suavemente con un agitador magnético (200 rpm) a temperatura ambiente ( $20 \pm 1$  °C) y se mantuvo durante 1 hora en la solución gelificante para promover un entrecruzamiento adecuado en la superficie<sup>16</sup>.

### *Caracterización física de las micropartículas*

#### *Tamaño, distribución de tamaño y forma*

Para evaluar el tamaño, la distribución de tamaño y la forma de las micropartículas, se realizó un análisis de imágenes utilizando el software ImageJ (Versión 1.53t, 24 de agosto de 2022). La adquisición de datos se realizó mediante microscopía utilizando un microscopio óptico (Celestron®, 44341, Torrance, CA, EE. UU.) equipado con una cámara. El análisis de imágenes incluyó la medición del diámetro máximo ( $D_{\text{max}}$ ) y del diámetro perpendicular a este ( $D_{\text{per}}$ ) de una muestra de 40 micropartículas en 6 ocasiones para determinar el tamaño y la distribución del tamaño. El tamaño de la microcápsula se calculó utilizando el promedio entre  $D_{\text{max}}$  y  $D_{\text{per}}$ . Para evaluar la forma, se determinó la esfericidad promedio de las micropartículas. Para esto, se aplicó el Factor de Esfericidad (SF) para evaluar el grado de desviación de la redondez de las micropartículas (Chan, 2011). Se considera que si  $SF \leq 0.05$  se tiene una microcápsula esférica (Benavides et al., 2016; Chan, 2011). Un valor alto de SF indica un mayor grado de distorsión de la forma, mientras que un valor de cero indica que la partícula es una esfera perfecta<sup>1</sup>. El SF se puede calcular utilizando la siguiente expresión:

$$SF = (D_{\text{max}} - D_{\text{per}}) / (D_{\text{max}} + D_{\text{per}}) \quad (\text{Eq.1})$$

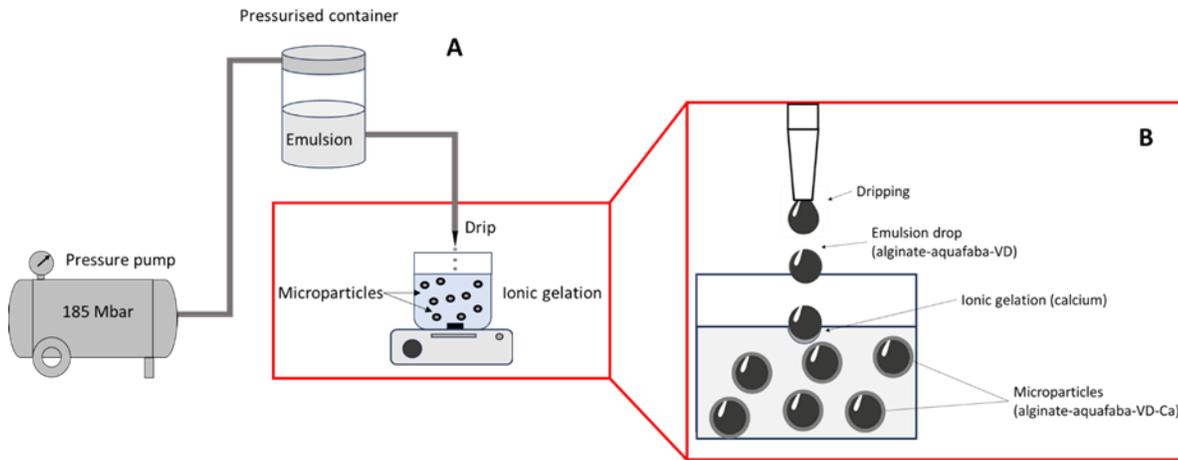
Where:

$D_{\text{max}}$ = Diámetro máximo de microcápsula

$D_{\text{per}}$ = Diámetro perpendicular a diámetro máximo

Adicionalmente, la microestructura de superficie de las micropartículas cargadas con vitamina D fue observada con un microscopio electrónico de barrido (SEM) (LEO electron microscopy Ltd., Cambridge,

United Kingdom). Las micropartículas fueron cubiertas con nanopartículas de oro con una capa menor a 20 nm. Para esto, se usó un evaporador al vacío (Hitachi, E1010) (Jannasari et al., 2019).



**Figura 1.** Proceso para obtener micropartículas, A: Sistema presurizado de goteo; B: Detalle de formación de micropartículas por gelificación iónica. Fuente: Elaboración propia.

Para determinar la calidad del proceso de encapsulación, la caracterización de las microcápsulas se basó en la evaluación del rendimiento (Y%), la eficiencia de encapsulación (EE%) y la capacidad de carga (LC%). La EE y la LC se determinaron según la metodología descrita por Jannasari et al. (2019), con algunas modificaciones. Brevemente, las microcápsulas se dispersan en 15 ml de hexano a temperatura ambiente y se agitan durante 2 minutos. Luego, el solvente se filtra a través de papel filtro (Ahlstrom-Munksjö, 393) para separar la VD no encapsulada de la superficie de las microcápsulas, y el hexano restante se evapora bajo una campana durante 24 horas a temperatura ambiente. La EE y la LC se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones descritas por Jannasari et al. (2019):

$$EE(\%) = \left( \frac{VD_{Tot} - VD_s}{VD_{Tot}} \right) \times 100 \tag{Eq.2}$$

$$LC(\%) = \frac{VD_{Tot} - VD_s}{M_{mc}} \times 100 \tag{Eq.3}$$

Donde:

VD<sub>Tot</sub>: Peso de vitamina D total

VD<sub>s</sub>: Peso de vitamina D en la superficie

M<sub>mc</sub>: Peso de las microcápsulas obtenidas

Con respecto al rendimiento (Y%), este se define como la relación entre el peso de las microcápsulas obtenidas y la cantidad de emulsión utilizada en el proceso de encapsulación. El rendimiento del proceso de microencapsulación se calculó utilizando la siguiente ecuación descrita por Benavides et al. (2016):

$$Y(\%) = \frac{M_{mc}}{M_{em}} \times 100 \tag{Eq.4}$$

Donde:

$M_{mc}$ : Peso de las microcápsulas obtenidas

$M_{em}$ : Peso de la emulsión usada

Se aplicó un diseño factorial  $2^2$ . Las variables estudiadas fueron el tipo de fase acuosa (agua o aquafaba) y la relación entre la fase acuosa y la fase oleosa de la emulsión (1:1 y 4:1) (Tabla 1). Todas las muestras se analizaron por triplicado para determinar la media y la desviación estándar (DE). Los datos experimentales se analizaron estadísticamente utilizando el software Jamovi (versión 2.3.28). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las muestras. Se utilizó la prueba de Tukey como procedimiento de comparación múltiple.

Tabla 1. Diseño experimental y códigos de tratamientos realizados.

Tipo de fase acuosa	Tratamiento	Razón de mezcla (fase acuosa:fase oleosa)
Aquafaba	T1	1:1
	T2	4:1
Agua	T3	1:1
	T4	4:1

Fuente: Elaboración propia.

## Resultados

### *Caracterización física de las microcápsulas*

El tamaño y la forma de las microcápsulas se evaluaron midiendo los diámetros máximo y perpendicular de 40 microcápsulas seleccionadas al azar, para cada tratamiento (T1, T2, T3 y T4). Los resultados fueron analizados estadísticamente y parámetros descriptivos tales como el diámetro promedio y la esfericidad fueron calculados (Tabla 2). Los resultados mostraron que los diámetros promedio de los tratamientos con aquafaba como fase acuosa (T1 y T2) fueron menores en comparación con los tratamientos que usaron agua (T3 y T4). Además, los tratamientos con una relación 4:1 (T2 y T4), es decir, con menor proporción de aceite, presentaron un mayor diámetro en comparación con las mezclas 1:1 (T1 y T3).

La Tabla 2 muestra claramente que la distribución de tamaño de las microcápsulas en los tratamientos con aquafaba varía en un rango de valores menores que sus análogas en base a agua. Adicionalmente, los resultados estadísticos confirmaron que el promedio del diámetro de las microcápsulas presenta diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre las muestras con diferente fase acuosa y también entre las muestras con diferente razón de mezcla.

Tabla 2: Parámetros descriptivos de microcápsulas analizadas.

Tratamiento	Tipo de fase acuosa	Razón de mezcla	Diámetro promedio (mm)	Dispersión de tamaño (mm)	Factor de esfericidad promedio
T1	Aquafaba	1:1	0.510±0.06 <sup>a</sup>	0.35-0.68	0.0568 <sup>a</sup>
T2		4:1	0.914±0.09 <sup>b</sup>	0.73-1.18	0.0899 <sup>b</sup>
T3	Water	1:1	0.602±0.06 <sup>a</sup>	0.51-0.72	0.0524 <sup>a</sup>
T4		4:1	1.004±0.12 <sup>b</sup>	0.83-1.35	0.0695 <sup>b</sup>

Los valores con diferentes superíndice en la misma columna, presentan diferencias significativas entre sí ( $P < 0.05$ ). Fuente: Elaboración propia.

El factor de esfericidad indicó que las microcápsulas no son completamente esféricas, variando con el tipo de tratamiento. El tamaño de las micropartículas osciló entre 0,5 y 1 mm.

### *Morfología observada por SEM*

Las microcápsulas cargadas con VD se observaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Fig. 2). Las micrografías confirman los resultados del factor de esfericidad y respaldan el análisis de distribución de tamaño realizado con el software Image J. Como se observa en los insertos de las fotografías, la morfología de esas microcápsulas se caracterizó por formas uniformes, no esféricas con diámetros que oscilan entre 400 y 1000  $\mu\text{m}$ . Las microcápsulas provenientes de los tratamientos T1, T2 y T3 (figuras 5A, 5B y 5C) muestran una superficie lisa y compacta, sin la presencia de fisuras, grietas o interrupciones. En el caso del tratamiento T4 (Fig. 5D), se observaron microcápsulas con morfología irregular y signos de desintegración.

### *Eficiencia de encapsulación, capacidad de carga y rendimiento*

Los resultados de eficiencia de encapsulación (EE%), capacidad de carga (LC%) y rendimiento (Y%) se muestran en la Tabla 3. Los valores de EE superaron el 84% en todos los tratamientos. Los tratamientos con aquafaba (T1 y T2) obtuvieron eficiencias significativamente mayores (96,0±1,0% y 97,7±1,5%) en comparación con los que usaron agua (T3 y T4). Los valores de LC oscilaron entre 12,0±3,5% y 14,0±5,6%, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Los tratamientos basados en aquafaba (T1 y T2) mostraron rendimientos cercanos al 80%, mientras que el tratamiento T4, basado en agua, tuvo un rendimiento significativamente menor (58,5±9,2%) con respecto a los tratamientos con aquafaba y al tratamiento con agua con diferente proporción de fase acuosa: fase oleosa.

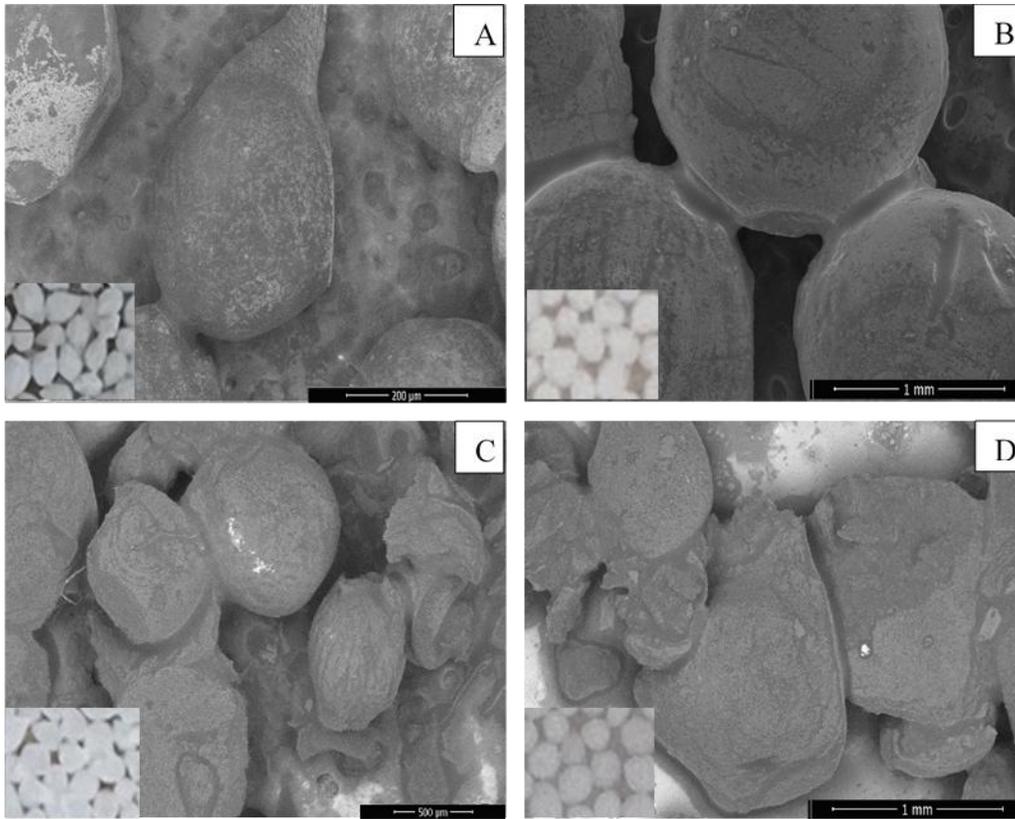


Figura 2. Imágenes SEM de las microcápsulas cargadas con VD: (A) Tratamiento T1 (1:1 con aquafaba), (B) Tratamiento T2 (4:1, aquafaba), (C) Tratamiento T3 (1:1, agua), and (D) Tratamiento T4 (4:1, agua). Los insertos muestran fotografías de las microcápsulas como referencia visual). Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3. Capacidad de carga (LC), eficiencia de encapsulación (EE), y rendimiento (Y) de microcápsulas estudiadas

Treatment	Type of aqueous phase	Mixture ratio (Aq or W:oil)	EE (%±SD)	LC (%±SD)	Y (%±SD)
T1	Aquafaba	1:1	96.0±1.0 <sup>a</sup>	13.7±0.6 <sup>a</sup>	79.7±3.5 <sup>a</sup>
T2		4:1	97.7±1.5 <sup>a</sup>	13.0±1.7 <sup>a</sup>	80.3±10.5 <sup>a</sup>
T3	Water	1:1	84.7±5.5 <sup>b</sup>	12.0±3.5 <sup>a</sup>	89.5±4.9 <sup>ab</sup>
T4		4:1	91.0±3.6 <sup>ab</sup>	14.0±3.6 <sup>a</sup>	58.5±9.2 <sup>ac</sup>

Los valores con diferentes superíndice en la misma columna, presentan diferencias significativas entre sí (P<0.05). Fuente: Elaboración propia.

## Discusión

### *Caracterización física de las microcápsulas*

Según literatura, las microcápsulas son pequeñas esferas con diámetros entre 0,002 mm y 5 mm, por lo que en este estudio es correcto hablar de microcápsulas de acuerdo con los resultados obtenidos (Ríos-Aguirre &

Gil-Garzón, 2021). Los tamaños de las microcápsulas en este estudio variaron entre 0,5 y 1,0 mm, siendo más pequeñas que las obtenidas por Chan (2011), quien reportó tamaños de aproximadamente 2 mm de diámetro, independientemente de la concentración de alginato y la carga de aceite. Mientras que los resultados obtenidos en el presente estudio son cercanos a los reportados por Benavides et al. (2016) y Ferrandiz et al. (2017), cuyos tamaños promedio de microcápsulas frescas fueron de 0,89 mm y 0,6 mm, respectivamente.

Ambos autores utilizaron el método de gelificación iónica. Sin embargo, en otras investigaciones con diferentes métodos de producción de microcápsulas se han obtenido diámetros más pequeños. Tal es el caso de Jannasari et al. (2019) y Barreto-Santos et al. (2021), quienes obtuvieron tamaños de 0,13 mm y 256 nm, respectivamente, en la microencapsulación de VD mediante el método de coacervación compleja. Varios estudios coinciden en que el método de encapsulación influye en el tamaño de las microcápsulas (Farahmand et al., 2021; Maurya et al., 2020; Ríos-Aguirre & Gil-Garzón, 2021).

En cuanto a la forma, se determinó que el factor de esfericidad (Tabla 2) es independiente de la proporción de fase acuosa: fase oleosa de cada emulsión. Para todos los tratamientos, se cumple con un valor promedio de  $SF \geq 0,05$ ; por lo tanto, las microcápsulas no son esféricas, lo cual se confirmó con microscopio. Resultados similares fueron encontrados en el estudio de Benavides et al. (2016), donde las microcápsulas obtenidas no tenían una forma esférica, sino ovalada, independientemente del grado de concentración y dispersión del aceite esencial de tomillo (AET). Por el contrario, Ferrandiz et al. (2017) produjeron microcápsulas de forma esférica con una topografía de superficie lisa utilizando el mismo método de gelificación iónica. Según estos autores, la forma esférica de las microcápsulas está principalmente influenciada por la concentración de alginato en la solución, ya que afecta la viscosidad, lo que conduce a la formación de estructuras esféricas. Ellos utilizaron concentraciones más altas de alginato (1, 3 y 4% p/v) y un proceso adicional de secado (50 °C) de las microcápsulas húmedas. Este último ayuda a observar más claramente la forma esférica, ya que el secado elimina cualquier deformación o irregularidad, resultando en microcápsulas esféricas bien definidas.

### *Morfología observada por SEM*

Las micrografías muestran que la microestructura de las microcápsulas es típica de una matriz producida por emulsiones (Nesterenko et al., 2014). La superficie lisa y compacta, sin presencia de fisuras, grietas o discontinuidades en las microcápsulas coincide con otros estudios relacionados con microcápsulas en base a alginato, como los estudios de Md Sai' aan et al. (2016) y Rahim et al. (2013).

Por el contrario, la desintegración de las microcápsulas de T4 podría deberse a la ausencia de proteína de aquafaba, ya que el alginato interactúa con las proteínas a través de diferentes interacciones (principalmente interacciones electrostáticas), como se ha encontrado en los estudios de Ashimova et al. (2019), Barros-Silverio et al. (2018) y Dehkordi et al. (2020b). Estas interacciones entre el alginato y las proteínas son cruciales para el proceso de encapsulación, influyendo en la estabilidad, estructura y propiedades funcionales de los biocompuestos resultantes (Ashimova et al., 2019).

### *Evaluación del desempeño, eficiencia de encapsulación y capacidad de carga de las microcápsulas*

El cálculo de EE es uno de los más importantes para evaluar la efectividad del procedimiento de encapsulación, ya que indica la cantidad de vitamina D atrapada internamente en la matriz biopolimérica (T. B. V. da Silva et al., 2021). Como se señaló, los resultados de EE (Tabla 3) para las microcápsulas basadas en aquafaba (T1 y T2) fueron significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) que los tratamientos basados en agua (T3 y T4). Es posible que la presencia de proteínas solubles de garbanzo en la aquafaba sea responsable de este fenómeno. Según Kamaldeen et al. (2020), al usar proteína de soya (u otra leguminosa con alto contenido proteico) y alginato de sodio como encapsulantes para la gelación iónica, los niveles de EE y el tamaño de la microcápsula aumentan debido a las interacciones entre los componentes de la matriz. Similarmente, en el estudio de Aguirre-Zazzali (2011), la incorporación de proteínas en el proceso de microencapsulación con quitosano incrementa el valor de EE de 52.5% a 90.2%. Sin embargo, otros estudios sobre el efecto de la concentración de proteínas en la EE son contradictorios, aunque no son comparables cuando se realizan con otras técnicas y parámetros de microencapsulación (Kim et al., 2023; Moutkane et al., 2023; Zhao et al., 2022). En esta investigación, el aumento de EE debido a la presencia de proteínas de aquafaba debería confirmarse con otras técnicas de análisis.

En relación con otros estudios de microencapsulación de VD, Jannasari et al. (2019) obtuvieron resultados de EE cercanos al 67% para microcápsulas obtenidas de gelatina A y mucílago de semillas de berro mediante el método de coacervación. La microencapsulación de VD3 mediante coacervación compleja usando gelatina A y goma tara-carboximetil entregó valores de EE que oscilaron entre 53% y 79%. Además, Wang et al. (2015) obtuvieron resultados de EE que variaron de 88.84% a 99.84% al microencapsular aceite de atún fortificado con vitaminas A, D3, E y K2 mediante el método de coacervación compleja usando gelatina y hexametáfosfato de sodio (EHMP). Finalmente, (S. Â. D. da Silva et al., 2023) obtuvieron resultados de EE de 83.9% al microencapsular VD3 con el método de homogeneización en caliente. Según estos estudios, los valores obtenidos en esta investigación están dentro de los resultados esperados para la microencapsulación de VD.

La capacidad de carga (LC) mide cómo las microcápsulas retienen la mayor parte del ingrediente al final del proceso (de Oliveira et al., 2020). Los valores de LC de todos los tratamientos (Tabla 3) difieren de los obtenidos en otros estudios. En el estudio de Barreto-Santos et al. (2021) se observaron resultados entre 0.13% y 0.35%, mientras que Luo et al., (2012) obtuvieron resultados entre 1.7% y 3.9%. Sin embargo, en ambos casos usaron una concentración de VD3 al 1%, menor a la del presente estudio.

Por otra parte, Jannasari et al. (2019) obtuvieron resultados más altos, con valores entre 16.52% y 47.04%, usando una concentración de VD3 similar a la de este estudio (10% p/v). Aunque estos autores usaron el método de coacervación compleja. Sin embargo, Benavides et al. (2021), que también trabajaron con gelación iónica, obtuvieron una LC más alta (56.4%), pero sus parámetros de proceso fueron optimizados para la investigación. La diferencia en los resultados con los otros autores podría deberse a los diferentes métodos de microencapsulación o condiciones de procesamiento utilizados. Además, varios estudios destacan la importancia de las propiedades del material, el diseño estructural y las condiciones ambientales para optimizar

la capacidad de carga en diversas aplicaciones de microencapsulación (Huan et al., 2022; Li et al., 2013; Prabhakar et al., 2018).

El rendimiento (Y) se refiere a la cantidad de microcápsulas obtenidas a partir del material crudo inicial (Duran et al., 2022). Los valores de Y obtenidos (Tabla 3) son más altos o similares a los de otros estudios. Por ejemplo, Benavides et al. (2016) obtuvieron rendimientos de 61.2%. Cáceres et al. (2020) obtuvieron valores cercanos, con un rendimiento promedio de 56.87%, al microencapsular aceite esencial de pomelo con alginato de sodio mediante gelación iónica externa acoplada a extrusión. Los bajos rendimientos en los estudios mencionados, en comparación con el presente estudio, son explicados por los mismos autores debido a la pérdida de material que ocurre durante la transferencia de la emulsión y el proceso de goteo a través de la jeringa. En relación a esto, en la investigación actual, el recipiente que contenía la emulsión se conectó directamente a la bomba, por lo que no hubo transferencia de material. En general, esto disminuyó las pérdidas y aumentó el Y en tres de los cuatro tratamientos en comparación con otros estudios (Almeida et al., 2013; Avramenko et al., 2013).

En el caso del tratamiento T4, se produjo una desintegración parcial de las microcápsulas durante el goteo de la emulsión en la solución de  $\text{CaCl}_2$ , lo que explicaría el bajo valor de Y. Esto puede corroborarse en las micrografías SEM (Fig. 5D). Esta desintegración podría estar relacionada con el uso de agua en lugar de aquafaba y la proporción de agua y aceite en la mezcla (4:1). La emulsión basada en aquafaba tiene un valor de pH de 6.2 y, según estudios previos, la estabilidad de las emulsiones basadas en aquafaba preparadas a este valor de pH es incluso mayor que la de la proteína de huevo, lo que favorecería la integridad de la microcápsula durante el goteo (Buhl et al., 2019). Además, la carga eléctrica de la proteína de aquafaba a ese valor de pH es ligeramente negativa (-1.6 mV), por lo que es altamente probable que se establezcan interacciones iónicas con el calcio libre, favoreciendo la integridad de la microcápsula y reduciendo la pérdida de material (Buhl et al., 2019; Dehkordi et al., 2020b).

Adicionalmente, la presencia de grupos hidrofóbicos debido a la desnaturalización térmica de las proteínas a las que son sometidas durante su extracción favorecería las interacciones hidrofóbicas con el aceite, ayudando también a la estabilidad de la emulsión y de las microcápsulas (Xue et al., 2021). Las proteínas de aquafaba se agregan en la interfaz agua-aceite y forman una película intermolecular cohesiva con suficiente elasticidad para estabilizar emulsiones y, por ende, mantener la integridad de las microcápsulas basadas en aquafaba (Włodarczyk et al., 2022).

## Conclusiones

El estudio encontró diferencias significativas en la eficiencia de encapsulación (EE) y la capacidad de carga (LC) entre las emulsiones preparadas con agua y aquafaba. Los resultados de EE y LC indican que la aquafaba puede mejorar la eficiencia y el rendimiento del proceso de microencapsulación en comparación con el agua.

Las microcápsulas resultantes presentaron superficies lisas sin grietas, lo que sugiere una buena integridad estructural, como lo confirmaron las micrografías SEM.

Este enfoque destaca el impacto significativo de la fase acuosa y las proporciones de mezcla en las propiedades físicas y funcionales de las micropartículas de vitamina D, sugiriendo que el uso de aquafaba no solo es viable, sino que también podría ofrecer ventajas sobre los métodos tradicionales de encapsulación. No obstante, es necesario realizar investigaciones futuras para confirmar algunos fenómenos, como las posibles interacciones de las proteínas de aquafaba con otros componentes. También se deben llevar a cabo pruebas de liberación de microcápsulas y conocer el mecanismo de liberación de las microcápsulas cargadas con VD3.

### Agradecimiento

Los autores agradecen el apoyo del equipo de la Unidad de Edición de la Universidad Adventista de Chile.

### Financiamiento

Esta investigación ha sido financiada por la Universidad Adventista de Chile a través de sus Fondos Internos de Investigación, bajo el proyecto PIR 226.

### Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en relación al presente estudio.

### Referencias

- Aguero, L.; Alpdagtas, S.; Ilhan, E.; Zaldivar-Silva, D. & Gunduz, O. (2021). Functional role of crosslinking in alginate scaffold for drug delivery and tissue engineering: A review. *European Polymer Journal*, 160, 110807. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110807>
- Aguilar-Shea, A. L. (2021). Vitamin D, the natural way. *Clinical Nutrition ESPEN*, 41, 10-12. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.12.001>
- Aguirre-Zazzali, P. J. (2011). *Preparación de micropartículas de quitosano para microencapsulación de biomoléculas*. [Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario, Universidad de Chile]. <https://n9.cl/eudzuk>
- Raus, A. R.; Wan N., W. M. F. & Nasaruddin, R. R. (2021). Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 280-306. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.10.001>
- Almeida, A. P.; Rodríguez-Rojo, S.; Serra, A. T.; Vila-Real, H.; Simplicio, A. L.; Delgadilho, I.; Beirão Da Costa, S.; Beirão Da Costa, L.; Nogueira, I. D. & Duarte, C. M. M. (2013). Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 140-145. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.07.009>
- Arazo-Rusindo, M. C.; Zúñiga, R. N.; Cortés-Segovia, P.; Benavides-Valenzuela, S.; Pérez-Bravo, F.; Castillo-Valenzuela, O. & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Nutritional Status and Serum Levels of Micronutrients in an Elderly Group Who Participate in the Program for Complementary Food in Older People (PACAM) from the Metropolitan Region, Santiago de Chile. *Nutrients*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.3390/nu14010003>

- Ashimova, A.; Yegorov, S.; Negmetzhanov, B. & Hortelano, G. (2019). Cell Encapsulation Within Alginate Microcapsules: Immunological Challenges and Outlook. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 380. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00380>
- Avramenko, N. A.; Low, N. H. & Nickerson, M. T. (2013). The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. *Food Research International*, 51(1), 162-169. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.020>
- Barreto-Santos, M.; de Carvalho, C. W. P. & García-Rojas, E. E. (2021). Microencapsulation of vitamin D3 by complex coacervation using carboxymethyl tara gum (*Caesalpinia spinosa*) and gelatin A. *Food Chemistry*, 343, 128529. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128529>
- Barros-Silverio, G.; Sakanaka, L. S.; Alvim, I. D.; Shirai, M. A. & Grosso, C. R. F. (2018). Production and characterization of alginate microparticles obtained by ionic gelation and electrostatic adsorption of concentrated soy protein. *Ciência Rural*, 48(12). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180637>
- Basu, S.; Banerjee, D.; Chowdhury, R. & Bhattacharya, P. (2018). Controlled release of microencapsulated probiotics in food matrix. *Journal of Food Engineering*, 238, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.005>
- Benavides, S.; Cortés, P.; Parada, J. & Franco, W. (2016). Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food Chemistry*, 204, 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.104>
- Benavides, S.; Mariotti-Celis, M. S.; Paredes, M. J. C.; Parada, J. A. & Franco, W. V. (2021). Thyme essential oil loaded microspheres for fish fungal infection: Microstructure, in vitro dynamic release and antifungal activity. *Journal of Microencapsulation*, 38(1), 11-21. <https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1836055>
- Buhl, T. F.; Christensen, C. H. & Hammershøj, M. (2019). Aquafaba as an egg white substitute in food foams and emulsions: Protein composition and functional behavior. *Food Hydrocolloids*, 96, 354-364. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.041>
- Cáceres, L.; Velasco, G.; Dagnino, E. & Chamorro, E. (2020). Microencapsulation of grapefruit oil with sodium alginate by gelation and ionic extrusion: Optimization and modeling of crosslinking and study of controlled release kinetics. *Revista Tecnología y Ciencia*, 39, 41-61. <https://doi.org/10.33414/rtyc.39.41-61.2020>
- Can-Karaca, A.; Low, N. H. & Nickerson, M. T. (2015). Potential use of plant proteins in the microencapsulation of lipophilic materials in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 42(1), 5-12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.11.002>
- Chan, E.-S. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate Polymers*, 84(4), 1267-1275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.01.015>
- Chatterjee, D. & Bhattacharjee, P. (2015). Encapsulation of colour from peels of eggplant in calcium alginate matrix. *Nutrafoods*, 14(2), 87-96. <https://doi.org/10.1007/s13749-015-0001-5>
- da Silva, S. Â. D.; Batista, L. da S. P.; Diniz, D. S.; Nascimento, S. S. da C.; Morais, N. S.; de Assis, C. F.; Passos, T. S. & de Sousa Júnior, F. C. (2023). Microencapsulation of Probiotics by Oil-in-Water Emulsification Technique Improves Cell Viability under Different Storage Conditions. *Foods*, 12(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods12020252>

- da Silva, T. B. V.; de Oliveira, A.; Moreira, T. F. M.; da Silva, K. C.; Zanin, R. C.; Bona, E.; Gonçalves, O. H.; Shirai, M. A.; Peron, A. P. & Leimann, F. V. (2021). Analytical validation of an ultraviolet-visible procedure for determining vitamin D3 in vitamin D3-loaded microparticles and toxicogenetic studies for incorporation into food. *Food Chemistry*, 360, 129979. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129979>
- de Oliveira, W. Q.; Wurlitzer, N. J.; Araújo, A. W. de O.; Comunian, T. A.; Bastos, M. do S. R.; de Oliveira, A. L.; Magalhães, H. C. R.; Ribeiro, H. L.; de Figueiredo, R. W. & de Sousa, P. H. M. (2020). Complex coacervates of cashew gum and gelatin as carriers of green coffee oil: The effect of microcapsule application on the rheological and sensorial quality of a fruit juice. *Food Research International*, 131(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109047>
- Dehkordi, S. S.; Alemzadeh, I.; Vaziri, A. S. & Vossoughi, A. (2020a). Optimization of Alginate-Whey Protein Isolate Microcapsules for Survivability and Release Behavior of Probiotic Bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190(1), 182-196. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03071-5>
- Dehkordi, S. S.; Alemzadeh, I.; Vaziri, A. S. & Vossoughi, A. (2020b). Optimization of Alginate-Whey Protein Isolate Microcapsules for Survivability and Release Behavior of Probiotic Bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 190(1), 182-196. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03071-5>
- Donhowe, E. G.; Flores, F. P.; Kerr, W. L.; Wicker, L. & Kong, F. (2014). Characterization and *in vitro* bioavailability of  $\beta$ -carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.037>
- Duran, M.; Serrano, A.; Nikulin, A.; Dauvergne, J.-L.; Derzsi, L. & Palomo del Barrio, E. (2022). Microcapsule production by droplet microfluidics: A review from the material science approach. *Materials & Design*, 223, 111230. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.111230>
- Emadzadeh, B.; Ghorani, B.; Najji-Tabasi, S.; Charpashlo, E. & Molaveisi, M. (2021). Fate of  $\beta$ -cyclodextrin-sugar beet pectin microcapsules containing garlic essential oil in an acidic food beverage. *Food Bioscience*, 42, 101029. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101029>
- Farahmand, A.; Emadzadeh, B.; Ghorani, B. & Poncelet, D. (2021). A comprehensive parametric study for understanding the combined millifluidic and dripping encapsulation process and characterisation of oil-loaded capsules. *Journal of Microencapsulation*, 38(7-8), 507-521. <https://doi.org/10.1080/02652048.2021.1983053>
- Ferrandiz, M.; López, A.; Franco, E.; García-García, D.; Fenollar, D. & Balart, R. (2017). Development and characterization of bioactive alginate microcapsules with cedarwood essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 32(3), 184-190. <https://doi.org/10.1002/ffj.3373>
- Hasanvand, E.; Fathi, M.; Bassiri, A.; Javanmard, M. & Abbaszadeh, R. (2015). Novel starch based nanocarrier for Vitamin D fortification of milk: Production and characterization. En *Food and Bioprocess Technology* (Vol. 96). Institution of Chemical Engineers. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.09.007>
- Huan, L.; Xueyi, H.; Lei, L.; Xingyue, M.; Yun, F. & Yongmei, X. (2022). Micron and nano hybrid ufasomes from conjugated linoleic acid, their vesiculation and encapsulation of ginsenoside Rg3. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(10), 4140-4150. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11763>
- Hurtado, A.; Aljabali, A. A. A.; Mishra, V.; Tambuwala, M. M. & Serrano-Aroca, Á. (2022). Alginate: Enhancement Strategies for Advanced Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms23094486>

- Irazoqui, A. P.; Heim, N. B.; Boland, R. L. & Buitrago, C. G. (2015).  $1\alpha,25$  dihydroxi-vitamin D3 modulates CDK4 and CDK6 expression and localization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 459(1), 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.083>
- Jafari, S. M.; Vakili, S. & Dehnad, D. (2019). Production of a Functional Yogurt Powder Fortified with Nanoliposomal Vitamin D Through Spray Drying. *Food and Bioprocess Technology*, 12(7), 1220-1231. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02289-9>
- Jannasari, N.; Fathi, M.; Moshtaghian, S. J. & Abbaspourrad, A. (2019). Microencapsulation of vitamin D using gelatin and cress seed mucilage: Production, characterization and in vivo study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 972-979. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.096>
- Jiménez-Villeda, B. E.; Falfán-Cortés, R. N.; Rangel-Vargas, E.; Santos-López, E. M.; Gómez-Aldapa, C. A.; Torres-Vitela, M. R.; Villarruel-López, A. & Castro-Rosas, J. (2023). Synbiotic Encapsulation: A Trend towards Increasing Viability and Probiotic Effect. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2023, e7057462. <https://doi.org/10.1155/2023/7057462>
- Juzeniene, A. & Moan, J. (2012). Beneficial effects of UV radiation other than via vitamin D production. *Dermato-endocrinology*, 4(2), 109-117. <https://doi.org/10.4161/derm.20013>
- Kamaldeen, O. S.; Ariaahu, C. C. & Yusufu, M. I. (2020). Application of soy protein isolate and cassava starch based film solutions as matrix for ionic encapsulation of carrot powders. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4171-4181. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04455-w>
- Kim, W.; Wang, Y.; Vongsvivut, J.; Ye, Q. & Selomulya, C. (2023). On surface composition and stability of  $\beta$ -carotene microcapsules comprising pea/whey protein complexes by synchrotron-FTIR microspectroscopy. *Food Chemistry*, 426, 136565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136565>
- Kothale, D.; Verma, U.; Dewangan, N.; Jana, P.; Jain, A. & Jain, D. (2020). Alginate as Promising Natural Polymer for Pharmaceutical, Food, and Biomedical Applications. *Current Drug Delivery*, 17(9), 755-775. <https://doi.org/10.2174/1567201817666200810110226>
- Lavelli, V.; D' Incecco, P. & Pellegrino, L. (2021). Vitamin D Incorporation in Foods: Formulation Strategies, Stability, and Bioaccessibility as Affected by the Food Matrix. *Foods*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/foods10091989>
- Li, L.; Song, L.; Hua, T.; Wai Man, A. & Wong, K. S. (2013). Characteristics of weaving parameters in microcapsule fabrics and their influence on loading capability. *Textile Research Journal*, 83(2), 113-121. <https://doi.org/10.1177/0040517512454184>
- Liu, Z.-M.; Yang, Y.; Du, Y. & Pang, Y. (2017). Advances in Droplet-Based Microfluidic Technology and Its Applications. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45(2), 282-296. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(17\)60994-0](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(17)60994-0)
- Luo, Y.; Teng, Z. & Wang, Q. (2012). Development of Zein Nanoparticles Coated with Carboxymethyl Chitosan for Encapsulation and Controlled Release of Vitamin D3. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(3), 836-843. <https://doi.org/10.1021/jf204194z>
- Maurya, V. K.; Bashir, K. & Aggarwal, M. (2020). Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 196, 105489. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105489>

- McCourt, A.; McNulty, B. A.; Walton, J. & O' Sullivan, A. (2020). Efficacy and safety of food fortification to improve vitamin D intakes of older adults. *Nutrition*, 75-76, 110767. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110767>
- Md Sai' aan, N. H.; Soon, C. F.; Tee, K. S.; Ahmad, M. K.; Youseffi, M. & Khagani, S. A. (2016). Characterisation of encapsulated cells in calcium alginate microcapsules. *2016 IEEE EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES)*, 611-616. <https://doi.org/10.1109/IECBES.2016.7843522>
- Meurer, M. C.; De Souza, D. & Ferreira Marczak, L. D. (2020). Effects of ultrasound on technological properties of chickpea cooking water (aquafaba). *Journal of Food Engineering*, 265, 109688. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109688>
- Moutkane, M.; Benyahia, L. & Nicolai, T. (2023). Stable protein microcapsules by crosslinking protein particles in water in water emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 656, 130353. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.130353>
- Mustafa, R.; He, Y.; Shim, Y. Y. & Reaney, M. J. T. (2018). Aquafaba, wastewater from chickpea canning, functions as an egg replacer in sponge cake. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(10), 2247-2255. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13813>
- Nesterenko, A.; Alric, I.; Silvestre, F. & Durrieu, V. (2014). Comparative study of encapsulation of vitamins with native and modified soy protein. *Food Hydrocolloids*, 38, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.011>
- Ortiz-Romero, N.; Ochoa-Martínez, L. A.; González-Herrera, S. M.; Rutiaga-Quiñones, O. M. & Gallegos-Infante, J. A. (2021). Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: Una revisión sistemática. *TecnoLógicas*, 24(52), Article 52. <https://doi.org/10.22430/22565337.1962>
- Pasin, L.; Azón, G. & Garriga, M. (2012). *Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones*. 3(1), 130-151. <http://www.rvcta.org>
- Pérez-Castrillón, J. L.; Dueñas-Laita, A.; Brandi, M. L.; Jódar, E.; Del Pino-Montes, J.; Quesada-Gómez, J. M.; Cereto Castro, F.; Gómez-Alonso, C.; Gallego López, L.; Olmos Martínez, J. M.; Alhambra Expósito, M. R.; Galarraga, B.; González-Macías, J.; Bouillon, R.; Hernández-Herrero, G.; Fernández-Hernando, N.; Arranz-Gutiérrez, P. & Chinchilla, S. P. (2021). Calcifediol is superior to cholecalciferol in improving vitamin D status in postmenopausal women: A randomized trial. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 36(10), 1967-1978. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4387>
- Prabhakar, A. K.; Potroz, M. G.; Tan, E.-L.; Jung, H.; Park, J. H. & Cho, N.-J. (2018). Macromolecular Microencapsulation Using Pine Pollen: Loading Optimization and Controlled Release with Natural Materials. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(34), 28428-28439. <https://doi.org/10.1021/ACSAMI.8B09952>
- Rahim, S. N. A.; Sulaiman, A.; Hamzah, F.; Hamid, K. H. K.; Rodhi, M. N. M.; Musa, M. & Edama, N. A. (2013). Enzymes Encapsulation within Calcium Alginate-clay Beads: Characterization and Application for Cassava Slurry Saccharification. *Procedia Engineering*, 68, 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.12.200>
- Rendón-Moras, A. (2018). *Relacion de la vitamina D y Depression* [Universidad de las Américas]. [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lmr/rendon\\_moras\\_a/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lmr/rendon_moras_a/)

- Ribeiro, C.; Borges, J.; Costa, A. M. S.; Gaspar, V. M.; Bermudez, V. D. Z. & Mano, J. F. (2018). Preparation of Well-Dispersed Chitosan/Alginate Hollow Multilayered Microcapsules for Enhanced Cellular Internalization. *Molecules*, 23(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/molecules23030625>
- Ríos-Aguirre, S. & Gil Garzón, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: Una revisión. *TecnoLógicas*, 51, 1836. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9518022>
- Rodríguez-Huertas, J.; Rodríguez Lara, A.; González Acevedo, O.; Mesa, M. D.; Rodríguez Huertas, J.; Rodríguez Lara, A.; González Acevedo, O. & Mesa, M. D. (2019). Leche y productos lácteos como vehículos de calcio y vitamina D: Papel de las leches enriquecidas. *Nutrición Hospitalaria*, 36(4), 962-973. <https://doi.org/10.20960/nh.02570>
- Shim, Y. Y.; Mustafa, R.; Shen, J.; Ratanapariyanuch, K. & Reaney, M. J. T. (2018). Composition and properties of aquafaba: Water recovered from commercially canned chickpeas. *Journal of Visualized Experiments*, 2018(132), 1-14. <https://doi.org/10.3791/56305>
- Souza, S. V. S.; Borges, N. & Vieira, E. F. (2022). Vitamin d-fortified bread: Systematic review of fortification approaches and clinical studies. *Food Chemistry*, 372, 131325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131325>
- Troncoso-Pantoja, C.; Concha-Cisternas, Y.; Leiva-Ordoñez, A. M.; Martínez-Sanguinetti, M. A.; Petermann-Rocha, F.; Díaz-Martínez, X.; Martorell, M.; Nazar, G.; Ulloa, N.; Cigarroa-Cuevas, I.; Albala, C., Márquez, C.; Lera, L.; Celis-Morales, C.; Troncoso-Pantoja, C.; Concha-Cisternas, Y.; Leiva-Ordoñez, A. M.; Martínez-Sanguinetti, M. A.; Petermann-Rocha, F. & Celis-Morales, C. (2020). Prevalencia de fragilidad en personas mayores de Chile: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. *Revista médica de Chile*, 148(10), 1418-1426. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872020001001418>
- Uzcátegui D-S., L. (2012). Vitamina D: Más allá de sus efectos esqueléticos. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(1), 1-4. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1690-31102012000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1690-31102012000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Vallejo-Castillo, V.; Rodríguez-Stouvenel, A.; Martínez, R. & Bernal, C. (2020). Development of alginate-pectin microcapsules by the extrusion for encapsulation and controlled release of polyphenols from papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), e13331. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13331>
- Wang, B.; Vongsvivut, J.; Adhikari, B. & Barrow, C. J. (2015). Microencapsulation of tuna oil fortified with the multiple lipophilic ingredients vitamins A, D3, E, K2, curcumin and coenzyme Q10. *Journal of Functional Foods*, 19, 893-901. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.027>
- Wei, L.; Wong, D.; Jeoh, T. & Marco, M. L. (2024). Intestinal delivery of encapsulated bacteriocin peptides in cross-linked alginate microcapsules. *Food Research International*, 188, 114473. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114473>
- Włodarczyk, K.; Zienkiewicz, A. & Szydłowska-Czerniak, A. (2022). Radical Scavenging Activity and Physicochemical Properties of Aquafaba-Based Mayonnaises and Their Functional Ingredients. *Foods*, 11(8), 1129. <https://doi.org/10.3390/foods11081129>

- Xue, Y.; Li, C.; Liu, J.; Tan, J.; Yin, H.; Yao, L. & Zhang, Q. (2021). Microcapsule-type stabilizers with adjustable wettability and their application in Pickering emulsion. *Journal of Materials Science*, 56(31), 17527-17541. <https://doi.org/10.1007/s10853-021-06367-2>
- Yeh, E. B.; Barbano, D. M. & Drake, M. (2017). Vitamin Fortification of Fluid Milk. *Journal of Food Science*, 82(4), 856-864. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13648>
- Zhao, W.; Zhang, B.; Liang, W.; Liu, X.; Zheng, J.; Ge, X.; Shen, H.; Lu, Y.; Zhang, X.; Sun, Z.; Ospankulova, G. & Li, W. (2022). Lutein encapsulated in whey protein and citric acid potato starch ester: Construction and characterization of microcapsules. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.068>