



ARTÍCULO

Generación de un prototipo micro encapsulado de antioxidantes de hojas de maqui (*Aristotelia chilensis*) a partir del programa de mejoramiento genético de Plangen en Chile.

Roberto Ipinza C.^{1*} & Jorge González C.²

¹ Dr. Ingeniero de Montes. Investigador Instituto Forestal, sede Los Ríos. Roberto.ipinza@infor.cl

² Ingeniero en Biotecnología. Investigador Instituto Forestal sede Biobío.

*Autor para correspondencia

DOI: <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2022.574>

Recibido: 5.11.2022; Aceptado: 30.11.2022

RESUMEN

El programa de mejoramiento genético de generación avanzada de *Aristotelia chilensis* diferencia los dos principales productos que posee esta especie; el fruto y sus hojas. Las hojas normalmente se han considerado un producto de desecho, no obstante, es el órgano que posee la más alta concentración de compuestos bioactivos. La diferenciación de los clones selectos por su alta productividad desde el punto de vista frutal, parece ser el punto inicial para evaluar cuáles de ellos pueden a su vez ser los que exhiban la mayor cantidad de polifenoles totales y la mayor capacidad de antioxidante en sus hojas.

La tecnología de microencapsulación de los extractos de antioxidante, altamente activos, ricos en polifenoles y valiosos puede ser utilizado en alimento y otros productos. El objetivo de esta investigación fue estudiar las condiciones para obtener un prototipo micro encapsulado en base al mejor clon en cuanto a la cantidad de polifenoles totales y su capacidad de antioxidantes. Ambos atributos han recaído sobre el clon PGL3. Las microcápsulas obtenidas con este procedimiento contenían 81 mg/g sólidos total de polifenoles y su capacidad antioxidante medida en DPPH alcanzó a 75 mg de trolox/g sólidos total.

Palabras clave: *Aristotelia chilensis*, maqui, extractos de hojas, polifenoles, capacidad antioxidante, micro capsulas

SUMMARY

The advanced generation breeding program of *Aristotelia chilensis* differentiates the two main products of this species; the fruit and the leaves. The leaves have normally been considered a waste product; however, it is the organ with the highest concentration of bioactive compounds. The differentiation of selected clones for their high productivity from the fruit point of view seems to be the starting point to evaluate which of them may in turn be the ones that exhibit the highest amount of total polyphenols and the highest antioxidant capacity in their leaves.

The microencapsulation technology of the highly active, polyphenol-rich and valuable antioxidant extracts can be used in feed and other products. The objective of this research was to study the conditions to obtain a microencapsulated prototype based on the best clone in terms of the amount of total polyphenols and its antioxidant capacity. Both attributes have fallen on the PGL3 clone. The microcapsules obtained with this procedure contained 81 mg/g total polyphenol solids and their antioxidant capacity measured in DPPH reached 75 mg trolox/g total solids.

Key words: *Aristotelia chilensis*, Maqui, leaf extracts, polyphenols; antioxidant capacity, micro capsules

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con [Zuñiga et al. \(2017\)](#) el maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz.) es conocido por sus usos farmacológicos en la medicina tradicional de las comunidades nativas huilliches y mapuches de Chile. Se indica que tiene excelentes propiedades medicinales que ayudan a curar diarreas crónicas, disentería, enfermedades de la garganta, tumores intestinales, fiebre y cicatrización de heridas. Farmacológicamente, se han investigado las actividades antioxidantes, antidiabéticas y antivirales de las frutas y hojas de maqui.

El maqui tiene una importante presencia de fitoquímicos que pueden tener incidencia en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. En este sentido, el maqui no solo aporta nutrientes esenciales, sino que también fitoquímicos bioactivos, como alcaloides y polifenoles que potencialmente pueden contribuir a la promoción de la salud y prevención de enfermedades ([Fredes et al., 2020](#)).

En relación con el uso tradicional de la infusión de hoja de maqui para las dolencias de la garganta, tales como: inflamación, dolor e infección, [Delporte \(2006\)](#) evaluó la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antimicrobiana de diferentes tipos de extractos de hoja de maqui.

También [Muñoz et al. \(2011\)](#) investigaron la actividad analgésica, antiinflamatoria y antioxidante usando un ensayo *in vivo*, bio-guiado, para identificar los principales constituyentes químicos del maqui que validan científicamente su uso medicinal.

Las hojas de maqui, generalmente desechadas en la producción agroindustrial de frutos, también podrían ser utilizadas para obtener ingredientes bioactivos, ya que [Rubilar et al. \(2011\)](#) y [Muñoz et al. \(2011\)](#) demostraron que tienen incluso mayor contenido total de polifenoles y capacidad antioxidante que las bayas de maqui ([Rivera-Tovar et al., 2019](#)).

[Muñoz et al. \(2011\)](#), identificaron los alcaloides en distintos tipos de extractos obtenidos de la hoja de maqui y establecen que el extracto diclorometano de las hojas de maqui presenta una mezcla de triterpenoides (ácido ursólico y friedelina) y flavonoides como la quercetina.

Los distintos tipos de extractos presentan una composición de alcaloides y triterpenoides diferentes. Por ejemplo, el extracto metanólico tiene flavonoides como la quercetina-3-O- β -D-glucósido y el kaempferol, mientras que el extracto acuoso tiene una mezcla de alcaloides (protopina y aristotelina) y ácidos fenólicos ([Muñoz et al., 2011](#)).

Se han identificado varios polifenoles en las hojas de maqui: dos ácidos fenólicos (ácido gálico y ácido cumárico), cuatro flavonoles (quercetina, isoquercetina, miricetina y rutina), dos antocianinas (pelargonidina y peonidina), un flavanol (catequina) y un estilbeno (resveratrol) ([Vidal et al., 2013](#)). Las hojas de maqui contienen alcaloides de indol y quinolina (aristotelina, serratolina, aristotona, horbatina, horbatinol, protopina, aristoquinolina, 3-fromilindol).

[Avello et al. \(2008\)](#) evaluaron la capacidad antioxidante (CA) con el método TBARS (sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico) en plasma antes y después de la ingesta de una infusión de hoja de maqui (1%). El contenido de fenoles totales en la infusión fue de 0,074 mM equivalentes de ácido gálico (=EAG).

[Rubilar et al. \(2011\)](#) obtuvieron extractos de hojas de maqui por maceración con 50% de agua/etanol a temperatura ambiente y una relación solvente a sólido de 5:1. El contenido total de polifenoles de los extractos obtenidos fue de $69,0 \pm 0,9$ mg EAG/g de peso seco, y la capacidad captadora de antirradicales frente a DPPH¹ mostró una IC₅₀² de $8,0 \pm 0,1$ mg de extracto/L.

¹ DPPH, es el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo. Este método se utiliza para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y compuestos sintéticos, y mide en términos de su porcentaje de inhibición del antioxidante.

² La mitad de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) es una medida de la potencia de una sustancia para inhibir una función biológica o bioquímica específica.

Bianchi *et al.* (2021) desarrollan un procedimiento para la extracción comercial de biocompuestos a partir de hojas de maqui. Dichos autores denominan a su procedimiento como de tecnologías verdes, ya que utilizan el agua como único solvente para recuperar compuestos fenólicos con propiedades antirradicales. Estos resultados sugieren que las hojas de maqui podrían ser una excelente fuente de antioxidantes y compuestos lipofílicos para muchas industrias, como la nutracéutica y farmacéutica (Crisóstomo-Ayala *et al.*, 2022).

Aristotelia chilensis es una planta rica en fenoles y otros compuestos bioactivos y como sus hojas se eliminan como desecho en la industria frutícola de maqui, el objetivo de este estudio es utilizarlas en base del conocimiento de los fitoquímicos presentes en esta especie, para que se pueda utilizar y aumentar la concentración de estos compuestos a través del programa de mejoramiento genético de la empresa Plangen (Ipinza *et al.*, 2020) y de esta forma agregar aún un mayor valor a las hojas de este valioso cultivo industrial. En términos específicos este estudio se enfoca a:

- a) Cuantificar los polifenoles totales y la capacidad antioxidante de tres tipos de extractos de hojas de maqui, en cada uno de los cinco clones productivos derivados del programa de mejoramiento genético de la empresa Plangen.
- b) Evaluar la actividad antioxidante del extracto seleccionado y su efecto *in vitro* e *in vivo*.
- c) Generar un prototipo de aditivo, antioxidante y encapsulado fundamentalmente para la alimentación animal.

MATERIAL Y MÉTODO

Clones Utilizados

El estudio se llevó a cabo utilizando cinco clones de alta productividad frutícola, originados en el programa de primera generación de mejora genética (PMG) de la empresa Plangen (Máfil, Región de Los Ríos, Chile). Dichos clones se han designado con la siguiente identificación: PLG1, PLG2, PLG3, PLG4 y PLG5.

Análisis de la Calidad y Pureza de las Hojas de Maqui a través de Mediciones Físicoquímicas de Hojas Frescas

El alto contenido de humedad de las muestras de hojas favorece el crecimiento de hongos y la hidrólisis de los principios activos presentes en ellas. Es por ello que el almacenamiento por largos períodos debe realizarse luego de un proceso de secado, donde se logre disminuir el contenido de humedad hasta niveles seguros. Los límites establecidos por la farmacopea para limitar el crecimiento de microorganismos en este tipo de productos son de 8 a 14%. Otra alternativa es el congelamiento de las hojas.

Las cenizas por su parte dan cuenta del contenido de minerales presentes en las plantas y su origen puede ser fisiológico o producto de contaminantes externos como polvo, tierra, arenas, entre otros, provenientes del medio ambiente. La farmacopea establece un valor límite de 11%.

Caracterización Fitoquímica de Extractos de Hojas de Maqui

La identificación de la familia de compuestos químicos se realizó a partir de plantas frescas de maqui. Estas fueron sometidas a tres extracciones sucesivas siguiendo un orden de polaridad ascendente, utilizando éter etílico, etanol y finalmente agua, como se describe en la Figura 1.

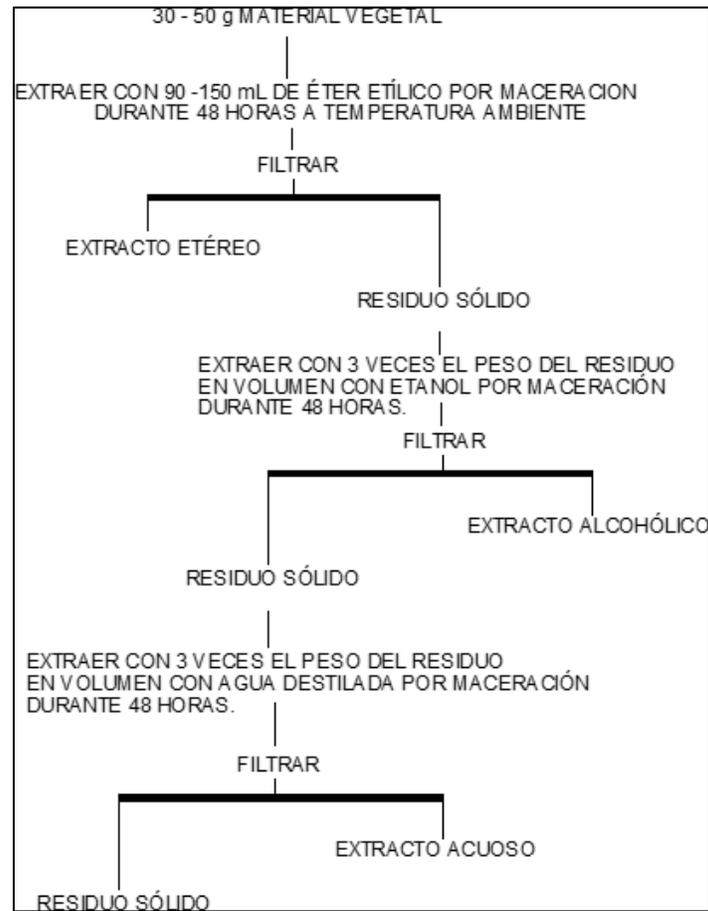


Figura 1. Extracción sucesiva de material vegetal para la aplicación de las técnicas de tamizaje fitoquímico.

Selección del Tipo de Extracto y Ecotipos de Hoja de Maqui

Se cuantificaron los polifenoles totales (PT) y la capacidad antioxidante (CA) de los tres tipos de extractos y de los 5 clones de hoja de maqui, mediante el método descrito para el reactivo Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999), y el método colorimétrico Difenilpicrilhidrazilo (DPPH) (Goupy *et al.*, 2003), respectivamente. Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 1-7,5 µg/mL.

Previo a la reacción, los extractos fueron diluidos con agua destilada. A una alícuota de 50 µL de cada extracto se le añadió 430 µL de agua y 20 µL de la solución de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar durante cinco minutos, luego se adicionó 450 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 20%. Posteriormente, se agitó vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevó a reposo por 60 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 725 nm en un espectrofotómetro. Las muestras fueron analizadas por duplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de sólidos totales en el extracto.

Para la cuantificación de DPPH se empleó el método de Brand-Williams *et al.* (1995). Los extractos fueron diluidos con metanol al 80% previo a la reacción. A 100 µL de muestra se le agregó 3.8 mL de una solución metanólica de DPPH, se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH, por

medio de la disminución de la absorbancia leída luego de 30 minutos de reacción a una longitud de onda de 515 nm, y se comparó el valor con la curva de referencia construida con Trolox¹ como patrón primario, expresando los resultados como valores TOT ($\mu\text{mol Trolox/g}$ de sólidos totales en el extracto). El valor se expresa en porcentaje de la capacidad de inhibición de los oxidante o capacidad antioxidante.

Lo anterior se realizó con la finalidad de seleccionar un tipo de extracto y clones que demuestren los mejores resultados obtenidos en los parámetros evaluados de contenido de polifenoles totales (PT) y de la capacidad antioxidante (CA), para posteriormente continuar con la generación del prototipo de aditivo antioxidante.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos corresponden a la media \pm D.S. ($n=5$). Para comparar los clones y los extractos, los valores promedios se analizaron mediante ANOVA con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0,05$), previa comprobación de la normalidad, seguido de la prueba de Tukey. Para aquellos datos que no cumplieran con los supuestos de normalidad se realizó el test no paramétrico de Kruskal & Wallis. Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.1 para Windows (*Graphic Systems Software, Inc.* EE.UU.).

Cuantificación de Polifenoles Totales y DPPH en Extractos de Hoja de Maqui

Debido a que el secado es “spray”² para la generación del prototipo, requiere que la muestra este en medio acuoso. El extracto etanólico se secó en rotavapor para posteriormente resuspender el residuo en agua. Esto permitirá luego comparar las concentraciones de polifenoles totales y de DPPH en el extracto acuoso y en el etanólico resuspendido en agua.

Generación de Prototipo de Aditivo Antioxidante

Se realizó un diseño experimental para evaluar las condiciones de proceso para la encapsulación de los compuestos antioxidantes del extracto secado por “spray”. Se evaluó temperatura de entrada al secador y concentración del agente protector de pared, en este caso su utilizó maltodextrina. Las condiciones determinadas se describen en el Cuadro 1. Cabe recalcar la necesidad de realizar al menos un filtrado del extracto seco y resuspendido por la alta cantidad de partículas sólidas, por lo que además fue necesario realizar pulsos de la válvula aspersora para evitar taponamientos. La relación de sólidos totales calculados como grados Brix³ en el extracto y el contenido de material de pared en g (maltodextrina) es de 1:2.

Cuadro 1. Condiciones utilizadas de secado por aspersión

Variable	Valor
Temperatura entrada (°C)	140
Flujo de aire (mmHg/s)	50
Aspiración bomba (%)	95
Flujo de alimentación (mmHg/s)	10
Pulsos válvula aspersora (N°)	5

¹ El Trolox® es un análogo hidrosoluble del alfa-tocoferol. En virtud de su alta solubilidad en agua y su amplia disponibilidad comercial, el Trolox es universalmente empleado como estándar en (las curvas de comparación de) diversos ensayos de actividad antioxidante (como ORAC, TEAC). En el caso del ensayo ORAC, la actividad antioxidante se expresa como micromoles de Equivalentes Trolox (ET) por unidad de peso o de volumen de la muestra analizada (generalmente, por 100 g de peso fresco o 100 mL).

² El secado por atomización (Secado Spray) es el proceso de pulverizar una solución o suspensión en una corriente de aire caliente, la cual deshidrata en forma casi instantánea, obteniéndose partículas de polvo, con muy bajo contenido de agua, que contienen al compuesto en cuestión.

³ El grado Brix (símbolo °Bx) es una unidad de cantidad que mide los sólidos o materia seca total disuelta en un líquido determinado.

Evaluación *In Vivo* del Efecto Antioxidante del Extracto de Hoja de Maqui

La evaluación de antioxidante del extracto de hoja de maqui se realizó usando el modelo biológico *Caenorhabditis elegans*, un nemátodo ampliamente utilizado en estudio de evaluación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante. En los nemátodos la sensibilidad al estrés oxidativo se logra mediante su exposición a algún agente oxidante, como la juglona¹, (5-hidroxi 1,4- naftalenodiona), que es un compuesto generador de superóxido (Olsen *et al.*, 2006), que provoca un aumento de los niveles de ROS² en los nemátodos hasta el punto en que disminuye la supervivencia de los mismos.

Para el ensayo, se utilizó la cepa silvestre de nemátodo N2 Bristol obtenida del Centro de Genética de *Caenorhabditis* (CGC) de la Universidad de Minnesota, EEUU. Las condiciones de mantenimiento de los individuos fueron en placas de Petri con agar sólido NGM "*Nematode Growth Medium*" y como fuente de alimento se utilizó la cepa bacteriana *Escherichia coli* OP50. Los nematodos fueron almacenados a 20°C, temperatura que permite su desarrollo de huevo a adulto en 3 días (Stiernagle, 2006). Para los tratamientos, se utilizó placas estériles con agar NGM suplementadas con el extracto etanólico seco resuspendido en agua del clon seleccionado de maqui. Además, se utiliza un control negativo que corresponde a placas sin el producto y como control positivo, se utilizó el antioxidante quercetina. Se ha reportado que este antioxidante aumenta la resistencia al estrés oxidativo de los nemátodos expuestos al agente estresor juglona, en aproximadamente un 20% (Koch *et al.*, 2014).

Ensayo de Resistencia al Estrés Oxidativo

Los nemátodos sincronizados en estado huevo fueron traspasados a los distintos tratamientos. Al tercer día, en estadio L4, los nemátodos fueron pasados a placas de 35 mm con NGM suplementadas con juglona a una concentración de 180 µM. El ensayo consistió en contabilizar cada 1 hora los individuos vivos y muertos durante un total de 5 horas, removiendo los nemátodos muertos (Senchuk *et al.*, 2017). El ensayo se realiza con tres repeticiones de cada tratamiento.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se realizó un análisis de supervivencia acumulada mediante el método Kaplan – Meier. Las comparaciones de los tratamientos respecto a la condición control, se determinaron mediante *Log-rank* (comparación por parejas sobre los estratos), utilizando el programa *Graphpad Prism* versión 6.

Prototipo Etiquetado

Al prototipo obtenido se le realizó una caracterización química nutricional y una evaluación del contenido de polifenoles totales y de la capacidad antioxidante mediante DPPH.

RESULTADOS

Análisis de la Calidad y Pureza de las Hojas de Maqui a través de Mediciones Físicoquímicas de Hojas Frescas.

Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 2. El contenido de humedad de las hojas de los clones oscila entre 53,7 - 57,6 g/100g de muestra. Los resultados de las hojas frescas cumplen con los estándares establecidos por la farmacopea, mostrando bajos contenidos de sustancias inorgánicas presentes en el material vegetal. Respecto de las cenizas solubles en agua o en ácido, estas son un

¹ La Juglona es un metabolito con acción fitotóxica.

² El término ROS se refiere a un grupo de moléculas conteniendo oxígeno con diferente reactividad química. Se les considera como metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos que poseen una fuerte capacidad oxidante, aunque dicha capacidad varía entre las diferentes especies.

parámetro asociado a la calidad de la muestra. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) los límites máximos de cenizas solubles en agua y ácido son de 7 y 5% respectivamente. Según esto, las hojas de maqui muestran valores muy por debajo de los límites reglamentarios, lo que hace que sea una buena matriz para la preparación de extractos, o para su utilización directa como hoja en polvo.

Cuadro 2. Calidad y pureza de las hojas de los clones de maqui

Propiedades	Clones				
	PLG1	PLG2	PLG3	PLG4	PLG5
Humedad (g/100g)	57,7	58,8	57,9	57,6	53,7
Cenizas totales (g/100g)	2,2	2,1	2,1	2,2	2,5
Sólidos solubles (g/100g)	1,2	1,4	1,5	1,3	1,3
Cenizas solubles en ácido (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cenizas solubles en agua (%)	1,7	1,3	1,3	1,5	1,6

Caracterización Fitoquímica de Extractos de Hojas de Maqui

Los diferentes extractos obtenidos presentaron un olor aromático característico y transparencia definida. Color amarillo en los extractos de éter, verde oscuro en los extractos etanólicos y café rojizo en el extracto acuoso. No se observó presencia de precipitados en ninguna de las muestras analizadas, ni separación de fases. Sin embargo, en el extracto acuoso se observa una alta presencia de mucilagos, lo que le da al extracto una consistencia gelatinosa que dificulta su filtración.

Una vez obtenidos los extractos se realizaron los ensayos para la identificación de las principales familias de compuesto químicos. Los resultados muestran que no hay diferencias en las familias de compuestos encontrados entre los diferentes clones de hojas de maqui analizadas. Excepto para los azúcares reductores utilizando el ensayo Fehling en el extracto alcohólico (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estudio fitoquímico en hojas de maqui de cinco clones

Extracto	Ensayo	Familia de Compuesto	Clones				
			PLG1	PLG2	PLG3	PLG4	PLG5
Etéreo	Sudan	Aceites y grasas	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Dragendorff	Alcaloides	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Wagner	Alcaloides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Liebermann-Buchard	Triterpenoides-esteroides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Alcohólico	Fehling	Azúcares reductores	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	Liebermann-Buchard	Triterpenoides-esteroides	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Espuma	Saponinas	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Cl ₃ Fe	Fenoles y taninos	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Shinoda	Flavonoides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Dragendorff	Alcaloides	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Wagner	Alcaloides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Acuoso	Dragendorff	Alcaloides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Wagner	Alcaloides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Cl ₃ Fe	Fenoles y taninos	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Shinoda	Flavonoides	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Fehling	Azúcares reductores	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Mucilagos	Polisacáridos	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Espuma	Saponinas	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	

Los resultados se muestran como respuestas: positiva (+) indica presencia de familia de compuesto según ensayo mencionado, negativa (-) indica ausencia de familia de compuesto según ensayo mencionado.

Los extractos obtenidos con éter muestran que todos los clones en estudio dan reacción positiva a los aceites, grasas y alcaloides. En el caso de la reacción de Liebermann-Buchard la reacción dio color azul lo que indica presencia de estructuras esteroidales.

Los extractos alcohólico o etanólicos muestran la presencia de flavonoides, alcaloides y taninos del tipo pirogalotánicos por el desarrollo de coloración azul intensa en la reacción de cloruro de férrico. Los extractos acuosos, muestran la presencia de todas las familias de compuestos ensayadas con excepción de saponinas. Al igual que en el extracto etanólico, el cloruro férrico dio coloración azul intensa por lo que se asume presencia de taninos del tipo pirogalotánicos.

Todos los extractos mostraron la presencia de alcaloides y aunque aumenta el potencial tóxico de los extractos, son de gran interés farmacológico, alimenticio y cosmético.

Selección del Tipo de Extracto y Clones de Hoja de Maqui

Se busca seleccionar un tipo de extracto y clones que demuestren los mejores resultados en los parámetros evaluados de Polifenoles totales y Capacidad antioxidantes, expresada como DPPH, para posteriormente continuar con la generación del prototipo de aditivo antioxidante. Los resultados se detallan en las Figura 2 y 3, respectivamente.

Respecto a los polifenoles totales presentados en la Figura 2, el análisis de las muestras del extracto acuoso indica que no hay diferencias entre los clones (p -valor = 0,470), pero que si existen estas diferencias en el extracto etanólico (p -valor = 0,006).

El análisis *post hoc* se realizó utilizando los Test de Rangos Múltiples - Prueba de Tukey. Se evidenció que los clones diferentes y superiores corresponden al PLG2 y PLG3 con 95,86 mg/g y 97,76 mg/g de hoja, respectivamente.

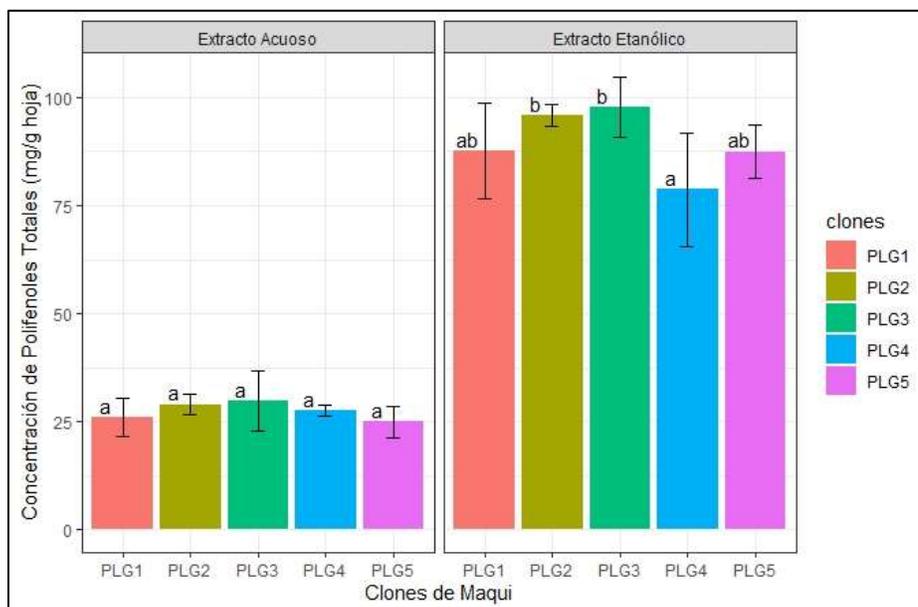


Figura 2. Concentración media de polifenoles totales en los clones analizados. (Letras distintas indican diferencias significativas, Prueba de Tukey, $\alpha = 0,05$).

En la Figura 3, se muestra la capacidad inhibición de los oxidantes o capacidad antioxidante expresada en concentración de DPPH, al analizar las muestras del extracto acuoso se puede ver que no hay

diferencias entre los 5 clones (p -valor = 0.104), pero que si existen estas diferencias en el extracto etanólico (p -valor = 0.04).

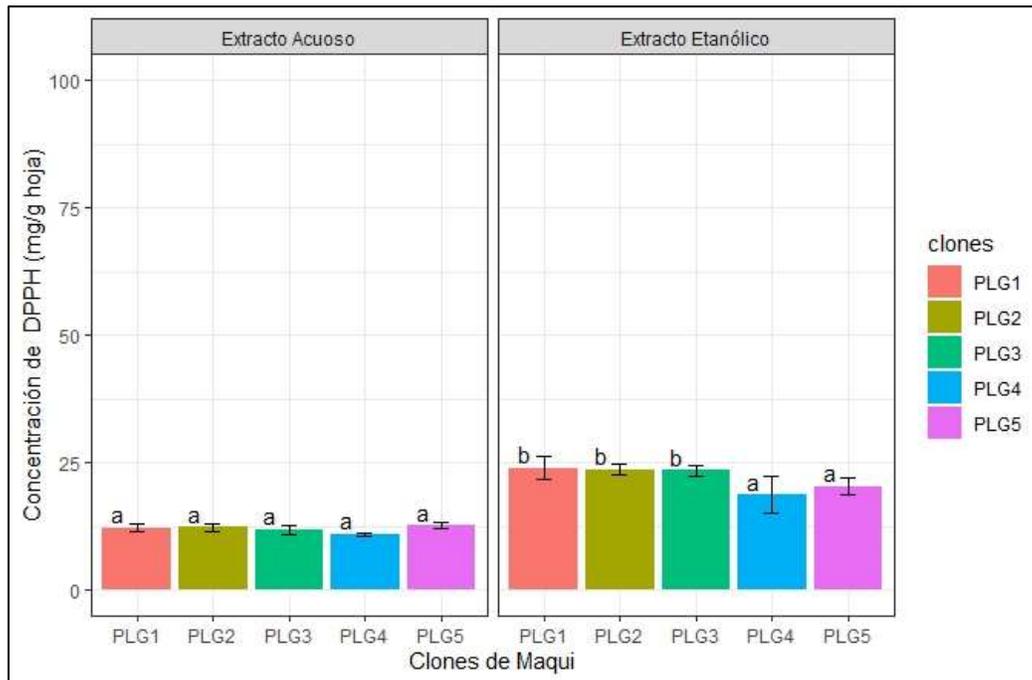


Figura 3. Concentración de DPPH equivalente a la capacidad antioxidante en los clones o capacidad de inhibición de los oxidantes analizados. (Letras distintas indican diferencias significativas, Prueba de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Para determinar aquellos que son significativamente diferentes unas de otras, se realizó los Tests de Rangos Múltiples- Prueba de Tukey. Se evidenció que los clones diferentes y superiores corresponden a PLG1, PLG2 y PLG3, presentando un mayor valor de inhibición.

De acuerdo con estos resultados se seleccionó el extracto etanólico y el clon PLG3.

Cuantificación de Polifenoles Totales y DPPH en Extractos de Hoja de Maqui

Al comparar las concentraciones de polifenoles totales en el extracto seco resuspendido en agua con los extractos acuoso y etanólico del clon PLG3 (Figura 4), se observa que el tratamiento térmico disminuye la concentración de polifenoles totales en un 46% con respecto al extracto etanólico y que aumenta en un 11% con respecto al extracto acuoso. Del mismo modo, la capacidad antioxidante a través del DPPH del extracto seco resuspendido en agua, presenta una disminución en un 46% con relación al extracto etanólico y un aumento del 46% con el extracto acuoso. Por este motivo, la encapsulación del extracto se realizó con el extracto etanólico resuspendido en agua.

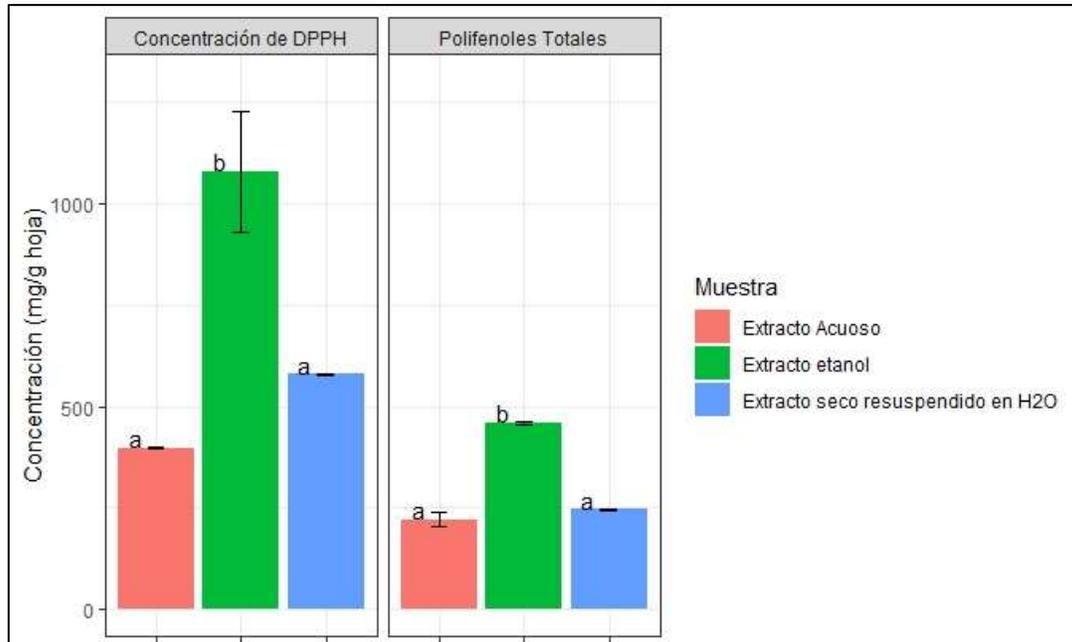


Figura 4. Concentración de polifenoles y DPPH en el clon seleccionado (PLG3). (Letras distintas indican diferencias significativas en las medias. Prueba de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Generación de Prototipo de Aditivo Antioxidante

El rendimiento del proceso fue del 68-70%, lo cual es aceptable, pero se puede mejorar optimizando las condiciones del mismo. El rendimiento del extracto sin material protector (sin maltodextrina) no alcanzó al 30%.

Para la generación del hito de obtención de 50 g de polvo de hojas de maqui, se resuspendió el extracto evaporado en 150 mL de agua, obteniendo alrededor de 4°Brix, por lo que fue necesario unos 3,7 L de muestra resuspendida. Adicionalmente, se evaluó el contenido de polifenoles totales (PT) y capacidad antioxidante (DPPH) del prototipo de aditivo antioxidante encapsulado con maltodextrina (MD) y sin maltodextrina. Los resultados se detallan en la Figura 5.

Al comparar los resultados de polifenoles totales y capacidad antioxidante DPPH entre las microcápsulas con y sin maltodextrina (MD) (Figura 5), se observa que hay igual concentración de PT en ambos formatos. En cuando a la capacidad antioxidante (DPPH) de observan diferencias, siendo el formato de microcápsulas sin MD el que presenta mayor concentración (Figura 5). Sin embargo, al considerar el rendimiento del proceso de secado, se evidencia un mayor rendimiento en las cápsulas con MD (68 al 70%), que en las cápsulas sin MD (30%). Por la tanto, el formato encapsulado con MD es seleccionado para la generación del prototipo de aditivo antioxidante.

Al comparar la concentración de polifenoles totales y capacidad antioxidante DPPH, entre el extracto seco resuspendido en agua (Figuras 3 y 4) y el extracto encapsulado con maltodextrina (Figura 5), se observa que el tratamiento térmico de secado por "spray", disminuye la concentración de polifenoles totales y de DPPH en un 40% y 75%, respectivamente. Se evidencia una vez más el efecto del calor sobre las concentraciones de PT y DPPH. Por lo tanto, se hace necesario optimizar el proceso de secado para obtener una mayor concentración de compuestos antioxidante en el prototipo de aditivo.

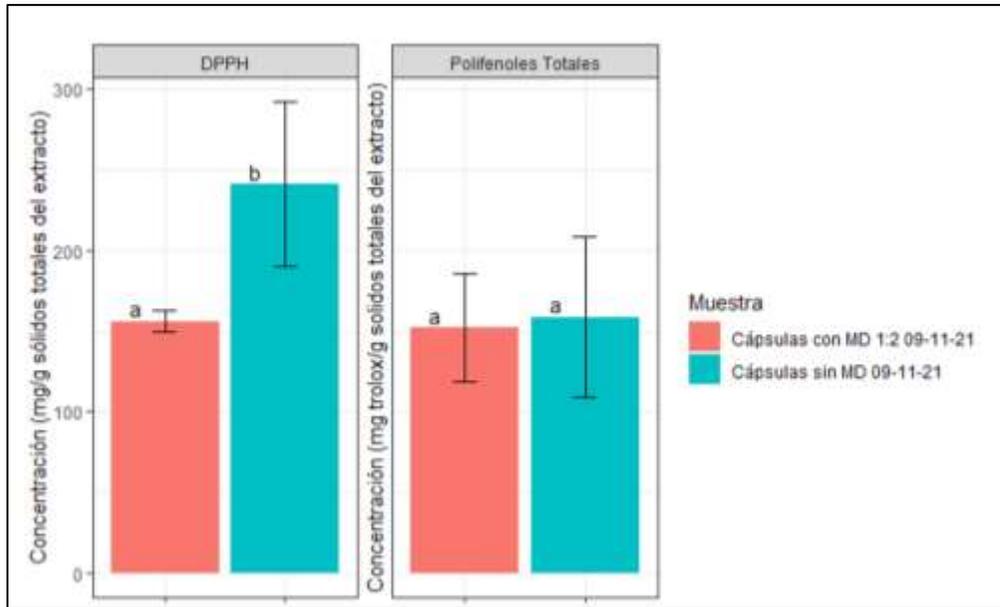


Figura 5. Concentración de DPPH y polifenoles totales en extracto encapsulado con y sin maltodextrina (MD). (Letras distintas indican diferencias significativas en las medias, Prueba de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Evaluación *In Vivo* del Efecto Antioxidante del Extracto de Hoja de Maqui (PGL3)

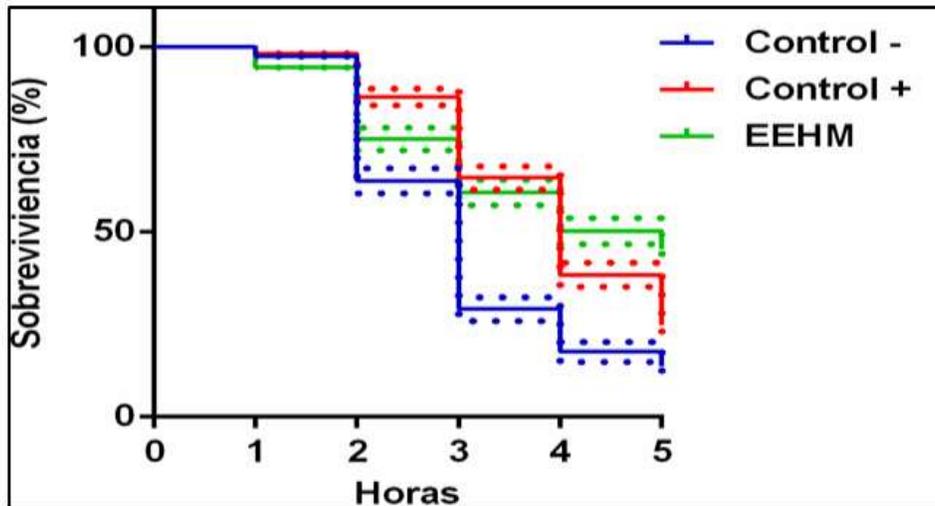


Figura 6. Gráfico obtenido mediante el estimador Kaplan-Meier que mide la función de supervivencia acumulada en el tiempo. La línea verde corresponde a la muestra con el extracto seco resuspendido en H₂O (EEHM). La línea azul corresponde a la muestra control sin el producto. La línea roja corresponde al control positivo con el antioxidante quercetina a una concentración de 200 μ M. Las líneas punteadas, corresponden al "Survival Probability Estimates" (SEM).

Cuadro 4. Efecto antioxidante del extracto etanólico de hoja de maqui en el modelo del nematodo *Caenorhabditis elegans*

Tratamientos	Concentración	Esperanza de vida media (h)	Supervivencia SEM (n)(*) (%)	Supervivencia sobre el control (%)	Significancia	p-value (**)
Control -	0	3	0,3221 (199)	NA	NA	N.A
Control +	200 µM	4	0,3214 (229)	20%	****	< 0,0001
EEHM	2,9 (mg/g sol. tot. extracto)	5	0,3511 (201)	40%	****	< 0,0001

(*) Número de individuos. (**) p-valor ≤ 0,05 log-rank. NA: No aplica. (****) Muy significativo

Se observa diferencia significativa al comparar el extracto etanólico de hoja de maqui con la condición control, lo que se traduce en un 40% de aumento en la supervivencia de los nemátodos expuesto al agente estresor.

Prototipo Etiquetado

Los resultados para el prototipo etiquetado, PLG3, se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Información nutricional, complementado con cantidad de polifenoles totales y DPPH, para el Clon PGL3

Porciones por envase: 100 g	
Energía (Kcal)	390,0
Proteínas (g)	0,7
Grasa total (g)	0,7
Hidratos de Carbono disponibles (g)	95,1
Azúcar total (g)	10,9
Sodio (mg)	7,9
Polifenoles totales (mg/g sólidos totales)	81,0
DPPH (mg de trolox/g sólidos totales)	75,0

DISCUSIÓN

El objetivo de la primera fase del Programa de Mejoramiento Genético (PMG) de maqui de la empresa Plangen (Ipinza *et al.*, 2020), es aumentar la productividad frutal; por lo mismo el tamaño del fruto, la relación pulpa semilla y la tolerancia a plagas y enfermedades son las características más importantes. En una segunda etapa, una vez mejorada la productividad de la biomasa del fruto, los principales rasgos a mejorar son la cantidad de polifenoles y la capacidad antioxidante de los frutos.

Dada la riqueza de fitoquímicos bioactivos como alcaloides y polifenoles que presenta la planta de maqui, la cual está demostrada en más de 270 publicación científica sobre *Aristotelia chilensis* en el sistema SCOPUS (<https://www.scopus.com/sources.uri?zone=TopNavBar&origin=searchauthorfreelookup>), se abren muchas expectativas, en especial por el uso de las hojas, ya que están siempre disponible, por su característica de ser una especie perennifolia o siempreverde. Además, como lo ha demostrado Rubilar *et al.* (2011) y Muñoz *et al.* (2011) las hojas tienen un mayor contenido total de polifenoles y capacidad antioxidante que las bayas de maqui (Rivera-Tovar *et al.*, 2019). Es por esta razón que el programa de mejoramiento de la empresa Plangen propone utilizar las plantas de maqui en forma integral, usando los mejores clones productivos en relación al fruto, y que demuestran que sus hojas exhiben una gran

variabilidad en la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante, esto último es especialmente útil para la alimentación animal.

El programa de mejoramiento genético exhibe un enfoque bioeconómico, aborda la búsqueda de un procedimiento para utilizar las hojas, consideradas hasta la fecha como un desecho del cultivo industrial del maqui. De acuerdo a Vidal *et al.* (2013) la tecnología de la microencapsulación de concentrados de extracto de hojas es una apropiada alternativa para el aprovechamiento de estos compuestos bioactivos, permitiendo la diversificación productiva de los sistemas de aprovechamiento de esta especie.

El proceso se inicia considerando cinco clones selectos desde el punto de vista productivo de sus bayas y originados a través del Programa de Mejoramiento Genético de la empresa Plangen. A sus hojas frescas y sin evidencia de daño biótico, se las somete a un análisis físico-químico, fundamentalmente de la humedad y contenido de cenizas. En este trabajo se demuestra que tanto la humedad como las cenizas, están muy por debajo de los límites reglamentarios establecidos por la OMS (Organización Mundial de la Salud), luego estos valores encontrados en las hojas frescas de maqui hacen que sea apropiadas, inicialmente, para la preparación de extractos y para su utilización como hoja en polvo, lo cual refrenda la capacidad del maqui de ser utilizado como suplemento alimenticio mediante un bajo nivel tecnológico.

Cada uno de los cinco clones fue sometido a tres extracciones sucesivas primero de éter etílico, etanol y finalmente de agua. Cada extracto y cada clon se sometió a una batería de pruebas fitoquímicas para determinar presencia o ausencia de: aceites y grasas, alcaloides, terpenos, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos, flavonoides y polisacáridos, usando diferentes métodos de ensayo (Cuadro 3). Los resultados muestran que no hay diferencias en las familias de compuestos químicos encontrados entre los distintos clones de las hojas de maqui. Excepto para el contenido de azúcares reductores medido en el extracto alcohólico usando el método de ensayo Fehling. Se puede observar una ausencia en azúcares reductores en la mayoría de los clones, mientras que el Clon PLG3 presenta una respuesta positiva. Esto explicaría los ° Brix encontrados en la solución resuspendida en agua para la obtención de 50 g de polvo de hojas de maqui.

Luego se establecieron unas pruebas para elegir el mejor clon para ser utilizado en la generación del prototipo micro encapsulado, lo que implica un uso de la capacidad antioxidante del maqui con un mayor nivel tecnológico. Para cada clon se usaron dos extractos, acuoso y etanólico, y se cuantificó los polifenoles totales y su capacidad antioxidante. Para la concentración de polifenoles, el extracto etanólico presentó diferencias significativas en relación al acuoso. En el extracto etanólico el clon PLG3 es el que exhibe un mayor valor y esta concentración de polifenoles es de 97,76 mg/g de hoja. Por el contrario, el clon que presenta el menor valor corresponde al clon PGL4 con un valor de 78,65 mg/g de hoja, evidenciándose una diferencia de 19,11 mg/g de hoja.

En relación a la capacidad antioxidante, que mide el porcentaje de inhibición de los oxidantes, medido en DPPH, el extracto etanólico fue mucho mayor que el acuoso. Dentro del extracto etanólico el clon con mayor DPPH es nuevamente el clon PGL3, con un valor de concentración de DPPH de 23,46 mg/g de hoja, contrario a los $18,81 \pm 3,67$ exhibidos por el clon PGL4 siendo este el de menor rendimiento, con una diferencia de 4,65 mg/g de hoja.

La concentración de polifenoles totales en el clon PGL3 es en promedio 246,82 mg/g de sólidos totales del extracto. La concentración de DPPH promedio en el mismo clon es de 579,34 mg trolox/g sólidos totales del extracto.

Los resultados sugieren que existe una importante variabilidad en la cantidad de polifenoles totales y su capacidad antioxidante, lo cual es una oportunidad para el Programa de Mejoramiento Genético de la empresa Plangen de generar clones de alto rendimiento para estos compuestos químicos, cuyo interés radica particularmente en la alimentación animal, pero que también son útiles para el sector farmacológico, alimentario y cosmético, en general. Las empresas que componen estos sectores, alertadas por el demostrado potencial riesgo para la salud humana (citotoxicidad y carcinogénesis) de

algunos antioxidantes sintéticos, han renovado el interés industrial por la búsqueda y el desarrollo de sustancias antioxidantes, pero de origen natural (Stoia & Oancea, 2022).

Debido a que el prototipo requiere que la muestra se encuentre en medio acuoso para su posterior secado y que la mayor concentración de polifenoles y por ende de la actividad antioxidante también se encuentra en el extracto etanólico, se procede a secarla, obteniendo un polvo el cual es resuspendido en agua. Quispe-Fuente *et al.* (2018) demostraron que la aplicación de cualquier método de secado da como resultado un producto final con buenos niveles de compuestos fenólicos. En este punto es importante destacar que el tratamiento térmico disminuye la concentración de polifenoles y de DPPH en un 54%, sin embargo, pese a esta disminución sigue estando en un nivel superior en relación con el extracto acuoso.

Cuando se intenta conservar compuestos bioactivos termolábiles puede ser interesante utilizar la liofilización, que es una combinación de técnicas de congelación – centrifugación que permite obtener concentrados con un mayor contenido de compuestos bioactivos que los métodos tradicionales de concentración (Bastías *et al.*, 2019).

No obstante, para la generación del prototipo antioxidante se procedió a evaluar el proceso de secado en “spray”. Al considerar la temperatura de entrada al secador y la concentración de un agente protector de pared (la maltodextrina), el rendimiento del proceso considerando este material protector es del 68-70%. El rendimiento del extracto sin material protector, es decir sin maltodextrina, no alcanzó el 30%. Esto indudablemente permite un aumento de la capacidad antioxidante del prototipo.

También se investigó si este material protector tenía alguna influencia sobre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante del material micro encapsulado. En el caso de la concentración de polifenoles en el extracto micro encapsulado, con o sin maltodextrina, se comprobó que no hay diferencias entre ambos factores. En cambio, en la capacidad de antioxidante, medida como concentración de DPPH en extracto encapsulado, la opción sin maltodextrina es la que presentó la mayor concentración.

Al considerar el rendimiento del proceso de secado se evidenció un mayor rendimiento en las microcápsulas con maltodextrina, siendo finalmente este protector el que se utiliza para la generación del prototipo con el clon PLG3.

Debido a los altos niveles de polifenoles totales y su capacidad antioxidante, el polvo de maqui se puede utilizar como ingrediente para la elaboración de productos cárnicos con etiqueta limpia (Velázquez *et al.*, 2022) y de esta forma reemplazar a los antioxidantes sintéticos. También Sette *et al.* (2022) indican que el polvo puede ser utilizado en forma directa como ingrediente para la elaboración de alimentos para diabéticos y mezclas sin gluten.

Para que esté completo el desarrollo del prototipo es necesario realizar una prueba *in vivo* del efecto antioxidante del extracto de la hoja de maqui, en este caso del clon PLG3. Para esta prueba se consideró el modelo biológico del nematodo *Caenorhabditis elegans*. La prueba consiste en someter al nemátodo a un estrés oxidativo mediante juglona al 20%.

El experimento indicó que el extracto resuspendido a 2,9 mg/g de sólidos totales, aumentó en un 40% la supervivencia de los nemátodos expuestos al agente oxidante, en relación al control, agregando así un control de calidad de los compuestos bioactivos de la hoja de maqui. Esta prueba es un importante indicador, ya que el nematodo se ha convertido en un sistema modelo animal muy estudiado, que posee elevada similitud con el genoma humano (40% de homología) y donde alrededor de 2/3 de los genes implicados en las enfermedades humanas están también presentes en el nematodo.

El prototipo es etiquetado mediante una caracterización química nutricional y los niveles finales de los polifenoles totales es de 81 mg/g de sólidos totales y su capacidad antioxidante expresada en DPPH es de 75 mg de trolox/g sólidos totales. Esta tecnología de microencapsulación es una alternativa muy promisoriosa para estabilizar factores de estrés y proteger ingredientes o aditivos alimentarios, que incluyen

principios bioactivos ambientalmente sensibles, en matrices protectoras para aumentar su funcionalidad y vida útil (Vidal *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

El Programa de Mejoramiento Genético de maqui de la empresa Plangen permite un uso integral tanto de fruto como del material foliar.

Existen diferencias significativas en la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en los extractos foliares de los clones de maqui utilizados en este estudio. Siendo los extractos etanólicos los que permiten extraer la mayor cantidad de polifenoles y una mayor capacidad antioxidante.

Se logró generar un prototipo de aditivo antioxidante a partir de las hojas antes consideradas de desecho o descarte de maqui.

El prototipo fue generado y presenta actividad antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo*.

Se observa que el tratamiento térmico de secado por “spray” disminuye la concentración de polifenoles y de DPPH en un 40% y un 75%, respectivamente. Por lo tanto, es imperativo investigar esquemas de optimización del proceso de secado, que permitan maximizar la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en las muestras.

La cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de muestras foliares de maqui generados en este estudio complementan el prototipo de etiquetado nutricional generado.

La generación de este prototipo abre interesantes perspectivas de uso de las hojas de maqui en la suplementación de la alimentación animal, en especial en el remplazo de antioxidantes sintéticos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores y Plangen agradecen el apoyo del Centro de Estudio en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Santiago por la elaboración del proyecto de investigación “Ingrediente Funcional a Partir de la Valorización de Desechos del Maqui”, código 21SNM-156860 - InnovaChile CORFO de Marzo del 2022.

REFERENCIAS

- Avello, M., Valladares, R. & Ordóñez, J. (2008).** Capacidad antioxidante de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 13(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400002
- Bastías-Montes, J.M., Choque-Chávez, M.C., Alarcón-Enos, J., Quevedo-León, R., Muñoz-Fariña, O. et al. (2019).** Effect of spray drying at 150, 160, and 170 °C on the physical and chemical properties of maqui extract (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz). Chilean Journal of Agricultural Research, 79(1): 144-152. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392019000100144>
- Bianchi, A., Rivera-Tovar, P.R., Sanz, V., Ferreira-Anta, T., Torres, M.D. et al. (2021).** Pressurized hot water extraction and bio-hydrogels formulation with *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz leaves. Molecules, 26(21) <https://doi.org/10.3390/molecules26216402>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C.L.W.T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Crisóstomo-Ayala K.A., Sabater-Jara A.B., Manriquez C.P., Ferreres F., Gil-Izquierdo A. et al. (2022).** Comparative study of metabolomic profile and antioxidant content of adult and *in vitro* leaves of *Aristolelia chilensis*. *Plants*, 11 (1), art. no. 37. <https://doi.org/10.3390/plants11010037>
- Delporte, C. (2006).** Determinación de las actividades antiinflamatorias, analgésicas, antioxidantes y antimicrobianas de las hojas de *Aristolelia chilensis* (Maqui). Identificación de los compuestos activos. Resúmenes del Primer Simposio Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas: Materia Primas, Puntos Críticos y Rol de Las Universidades. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 5, 135–136.
- Fredes, C., Parada, A. & Robert, P. (2020).** Química del maqui. En: Salinas, S. & Caballé, G. (Eds). Maqui el fruto silvestre de mayor importancia en Chile. Instituto Forestal. Capítulo 8. Pp: 196-232.
- Goupy, P., Dufour, C., Loonis, M. & Dangle, O. (2003).** Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J. Agric. Food Chem*, N° 51. Pp: 615-622. <https://doi.org/10.1021/jf025938l>
- Koch, K., Havermann, S., Büchter, C. & Wätjen, W. (2014).** *Caenorhabditis elegans* as Model System in Pharmacology and Toxicology: Effects of Flavonoids on Redox Sensitive Signalling Pathways and Ageing. *The Scientific World Journal*, vol. 2014:920398, 15. <https://doi.org/10.1155/2014/920398>
- Ipinza, R., Gutiérrez, B., Magni, C., Molina, M. P & Espejo, J. (2020).** La Domesticación del Maqui, un estudio de caso en Chile. En: Salinas, S. & Caballé, G. (Eds). Maqui el fruto silvestre de mayor importancia en Chile. Instituto Forestal. Capítulo 4. Pp: 106-144.
- Muñoz, O., Christen, P., Cretton, S., Backhouse, N., Torres, V. et al. (2011).** Chemical study and anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of the leaves of *Aristolelia chilensis* (Mol.) Stuntz, Elaeocarpaceae. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(6): 849–859. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01280.x>
- Olsen, A., Vantipalli, M.C. & Lithgow, G.J. (2006).** Using *Caenorhabditis elegans* as a model for aging and age-related diseases. *Ann N Y Acad Sci*.1067:120-8. <https://doi.org/10.1196/annals.1354.015>
- Quispe-Fuentes, I., Vega-Gálvez, A. & Aranda, M. (2018).** Evaluation of phenolic profiles and antioxidant capacity of Maqui (*Aristolelia chilensis*) berries and their relationships to drying methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11): 4168-4176. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8938>
- Rivera-Tovar, P.R., Mariotti-Celis, M.S., & Pérez-Correa, J.R. (2019).** Maqui (*Aristolelia chilensis* (Mol.) Stuntz) and Murta (*Ugni molinae* Turcz): Native Chilean sources of polyphenol compounds. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 16(3): 261-276. <https://doi.org/10.2174/1570193X15666180627120609>
- Rubilar, M., Jara, C., Poo, Y., Acevedo, F., Gutierrez, C., Sineiro, J. et al. (2011).** Extracts of Maqui (*Aristolelia chilensis*) and Murta (*Ugni molinae* Turcz.): Sources of antioxidant compounds and α -glucosidase/ α -amylase inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5): 1630-1637. <https://doi.org/10.1021/jf103461k>
- Senchuk, M.M., Dues, D, J. & Van Raamsdonk, J. M. (2017).** Measuring Oxidative Stress in: Paraquat and Juglone Sensitivity Assays. *Bio-protocol* 7(1): e2086. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2086>
- Sette, P., Garrido Makinistian, F., Maturano, C. & Salvatori, D. (2022).** Particulate systems from maqui (*Aristolelia chilensis*) wastes to be used as nutraceuticals or high value-added ingredients. *Drying Technology*, 40(13), 2669-2684. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1953521>
- Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol*, N° 299. Pp: 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Stiernagle, T. (2006).** Maintenance of *C. elegans*. *WormBook*. 11, 1-11. 10. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>
- Stoia, M. and Oancea, S. (2022).** Low-Molecular-Weight Synthetic Antioxidants: Classification, Pharmacological Profile, Effectiveness and Trends. *Antioxidants (Basilea)*. 11(4): 638. <https://doi.org/10.3390/antiox11040638>

- Velázquez, L., Quiñones, J., Inostroza, K., Sepúlveda, G., Díaz, R., et al. (2022).** Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz): A natural antioxidant to improve quality of meat patties. *Antioxidants*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/antiox11071405>
- Vidal, J. L., Avello, L. M., Loyola, C., C., Campos, P. J., Aqueveque, M. P. et al. (2013).** Microencapsulation of Maqui (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) leaf extracts to preserve and control antioxidant properties. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(1): 17–23. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392013000100003>
- Zúñiga, G. E., Tapia, A., Arenas, A., Contreras, R. & Zúñiga-Libano, G. (2017).** Phytochemistry and biological properties of *Aristotelia chilensis* a Chilean Blackberry: A review. *Phytochemistry Reviews*, 16(5): 1081-1094. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9533-1>