



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

**TESIS**

**EFFECTO DE LA MODIFICACIÓN TÉRMICA DEL  
ALMIDÓN EN LA ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS  
MICROENCAPSULADAS OBTENIDAS DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE *Hibiscus sabdariffa* L.**

**Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencia de los Alimentos**

**P R E S E N T A**

L. N. Beatriz Mendoza Avila

**Directora**

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

**Comité tutorial**

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe  
Dr. Apolonio Vargas Torres  
Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez

Tulancingo de Bravo, Hgo., México, noviembre 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

School of Forestry and Environmental Studies

Maestría en Ciencia de los Alimentos

COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Efecto de la modificación térmica del almidón en la estabilidad de antocianinas microencapsuladas obtenidas del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L.", que desarrolla el estudiante Beatriz Mendoza Avila.

Asistentes:

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

*Dr. Apolonio Vargas Torres*

*Dr. Juan Pablo Hernández Uribe*

*Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez*

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Beatriz Mendoza Avila, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE  
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"  
Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 6 de noviembre de 2023

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

Dr. Apolonio Vargas Torres

Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe



*Heidi Palma Rodríguez*  
*Apolonio Vargas Torres*  
*Ricardo Omar Navarro Cortez*  
*Juan Pablo Hernández Uribe*



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,  
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600  
Teléfono +52 (771) 71 72000 ext. 2425  
[maestria\\_alimentos@uaeh.edu.mx](mailto:maestria_alimentos@uaeh.edu.mx)

[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Ciencias Agropecuarias, en los laboratorios de Microbiología, Físicoquímica y el Taller de Fermentaciones. Para lo cual se contó con una beca otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), número de beca 1149265.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a Dios por acompañarme en cada una de mis metas, por darme la fortaleza y la sabiduría para seguir adelante.

A mis papas por su apoyo incondicional, su cariño y palabras de aliento.

Al cuerpo académico de aprovechamiento de polímeros de interés alimentario por abrirme las puertas, por su confianza, consejos y conocimientos brindados a lo largo de mi estancia en la maestría.

A mis amigos y amigas que estuvieron para mí cuando lo necesité, gracias a todos por su apoyo y lealtad.

A mis compañeros y amigos de laboratorio, agradezco cada momento que compartimos, su presencia enriqueció mi experiencia académica y personal, no tengo más que buenos deseos para ustedes.

A mi pareja por apoyarme en este proceso desde el inicio, muchas gracias por tus consejos, comprensión, cariño y palabras de aliento.

Al CONAHCYT por la beca otorgada para la elaboración de este proyecto de investigación.

A los profesores y asesores que han dejado una huella positiva en mi formación académica, gracias por su dedicación y orientación.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	I
ÍNDICE DE TABLAS .....	III
RESUMEN .....	IV
ABSTRACT .....	VI
INTRODUCCIÓN .....	1
1. ANTECEDENTES .....	2
1.1. Compuestos antioxidantes .....	2
1.2. <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. ....	2
1.3. Antocianinas.....	3
1.4. Microencapsulación.....	5
1.5. Composición de las cápsulas.....	6
1.6. Técnicas de encapsulación .....	7
1.6.1. Secado por aspersion.....	8
1.7. Materiales pared utilizados en la encapsulación de antocianinas .....	10
1.8. Almidón .....	12
1.8.1. Almidón de malanga.....	14
1.8.2. Propiedades térmicas del almidón .....	15
1.8.2.1. Gelatinización del almidón .....	15
1.8.3. Modificaciones del almidón .....	16
1.8.3.1. Tratamiento hidrotérmico por annealing.....	17
1.9. Usos del almidón como material pared .....	18
2. JUSTIFICACIÓN .....	19
3. OBJETIVOS .....	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
4.1. Materiales.....	21
4.2. Métodos .....	21
4.2.1. Extracción de compuestos bioactivos.....	21
4.2.2. Cuantificación de compuestos bioactivos.....	21
4.2.2.1. Fenoles totales.....	21
4.2.2.2. Antocianinas monoméricas .....	25
4.2.3. Actividad antioxidante.....	25

4.2.3.1.	Actividad antioxidante por el método de ABTS• .....	25
4.2.3.2.	Actividad antioxidante por el método de DPPH• .....	26
4.2.4.	Obtención del almidón de malanga .....	26
4.2.5.	Modificación hidrotérmica del almidón.....	27
4.2.6.	Pureza del almidón.....	27
4.2.7.	Amilosa aparente .....	28
4.2.8.	Caracterización morfológica.....	28
4.2.8.1.	Microscopía electrónica de barrido .....	28
4.2.9.	Caracterización fisicoquímica.....	29
4.2.9.1.	Actividad de agua.....	29
4.2.9.2.	Contenido de humedad .....	29
4.2.9.3.	Temperatura y entalpía de gelatinización.....	29
4.2.10.	Caracterización estructural.....	30
4.2.10.1.	Difracción de rayos X .....	30
4.2.10.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier .....	30
4.2.11.	Microencapsulación del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. ....	30
4.2.11.1.	Eficiencia de encapsulación .....	31
4.2.12.	Estabilidad de las microcápsulas .....	31
4.2.12.1.	Almacenamiento .....	31
4.2.13.	Contenido de compuestos bioactivos.....	32
4.2.13.1.	Fenoles totales.....	32
4.2.13.2.	Antocianinas monoméricas .....	32
4.2.13.3.	Antocianinas monoméricas en la superficie de las microcápsulas	32
4.2.14.	Actividad antioxidante.....	32
4.2.15.	Caracterización morfológica.....	33
4.2.15.1.	Microscopía electrónica de barrido .....	33
4.2.16.	Caracterización fisicoquímica.....	33
4.2.16.1.	Actividad de agua.....	33
4.2.17.	Caracterización estructural.....	33
4.2.17.1.	Patrón de difracción de rayos X .....	33
4.2.17.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier .....	34
4.3.	Análisis estadístico.....	34

5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
5.1.	Caracterización del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	35
5.1.1.	Cuantificación de compuestos bioactivos.....	35
5.1.2.	Actividad antioxidante.....	36
5.2.	Aislamiento del almidón de malanga.....	37
5.3.	Pureza del almidón.....	38
5.4.	Amilosa aparente .....	38
5.5.	Caracterización morfológica.....	40
5.5.1.	Microscopía electrónica de barrido.....	40
5.6.	Caracterización fisicoquímica .....	42
5.6.1.	Contenido de humedad y actividad de agua .....	42
5.6.2.	Temperatura y entalpía de gelatinización.....	43
5.7.	Caracterización estructural .....	44
5.7.1.	Patrón de difracción de rayos X .....	44
5.7.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier .....	46
5.8.	Eficiencia de encapsulación.....	47
5.9.	Estabilidad de las microcápsulas .....	49
5.9.1.	Almacenamiento.....	49
5.9.1.1.	Cuantificación de compuestos bioactivos .....	49
5.9.1.2.	Antocianinas en la superficie de las microcápsulas.....	53
5.9.1.3.	Actividad antioxidante.....	55
5.10.	Caracterización morfológica .....	59
5.10.1.	Microscopía electrónica de barrido.....	59
5.11.	Caracterización fisicoquímica .....	61
5.11.1.	Actividad de agua.....	61
5.12.	Caracterización estructural .....	61
5.12.1.	Patrón de difracción de rayos X.....	61
5.12.2.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier .....	62
6.	CONCLUSIONES .....	65
7.	REFERENCIAS.....	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química general de las antocianinas .....	4
<b>Figura 2.</b> Tipos de microencapsulados .....	7
<b>Figura 3.</b> Proceso de secado por aspersion .....	9
<b>Figura 4.</b> Estructura química de amilosa (a) y amilopectina (b).....	13
<b>Figura 5.</b> Etapa 1 caracterización del almidón nativo y modificado y cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto acuoso de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	23
<b>Figura 6.</b> Etapa 2 caracterización del microencapsulado de antocianinas mediante el secado por aspersion y evaluación de la estabilidad de las microcápsulas. ....	24
<b>Figura 7.</b> Microscopía electrónica de barrido del almidón de malanga nativo (AN_1 y AN_2), almidón modificado por annealing a 67 °C (AM-67_1 y AM-67_2) y almidón modificado por annealing a 70 °C (AM-70_1 y AM-70_2) a 2000x y 5000x respectivamente. ....	41
<b>Figura 8.</b> Patrón de difracción de rayos-X y porcentaje de cristalinidad del almidón .....	45
<b>Figura 9.</b> Espectro FTIR del almidón de malanga nativo (AN), modificado a 67 °C (AM-67) y modificado a 70 °C (AM-70). ....	47
<b>Figura 10.</b> Cuantificación de fenoles totales (mg EAG/ 100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento.	51
<b>Figura 11.</b> Cuantificación de antocianinas (mg EC-3G/ 100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento.	52
<b>Figura 12.</b> Cuantificación de antocianinas monoméricas (mg EC-3G/ 100 g de polvo) en la superficie de las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento.....	54

<b>Figura 13.</b> Actividad antioxidante por inhibición del radical ABTS• (mmol Eq Trolox/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento.....	57
<b>Figura 14.</b> Actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH• (mmol Eq trolox/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento.....	58
<b>Figura 15.</b> Micrografías electrónicas de barrido de las microcápsulas .....	60
<b>Figura 17.</b> Espectro FTIR del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y de los encapsulados .....	64

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Materiales de pared utilizados para la encapsulación de antocianinas... 11	11
<b>Tabla 2.</b> Cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. .... 37	37
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de amilosa en almidón nativo y almidón modificado de malanga por annealing..... 39	39
<b>Tabla 4.</b> Valores de actividad de agua y porcentaje de humedad del almidón nativo y almidón modificado por annealing. .... 43	43
<b>Tabla 5.</b> Propiedades térmicas por el método de calorimetría diferencial de barrido de los almidones nativo y modificados por annealing. .... 44	44
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de retención de antocianinas en las microcápsulas ..... 49	49

## RESUMEN

*Hibiscus sabdariffa* L. (HS) se caracteriza por su contenido de antocianinas. Su estabilidad se ve afectada por factores como la luz, el oxígeno y la temperatura. El almidón se ha utilizado como material pared para encapsular compuestos y puede ser modificado por tratamientos hidrotérmicos (annealing). El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la modificación térmica del almidón de malanga en la estabilidad de los compuestos bioactivos del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. microencapsulados mediante secado por aspersion. La modificación se realizó en una proporción 1:9 (almidón/agua) a 67 °C y 70 °C / 48 horas. Se cuantificaron los compuestos bioactivos (CB) y actividad antioxidante del extracto de HS; se realizó la caracterización del almidón nativo (AN) y almidones modificados (AM), así como de las microcápsulas y se evaluó la estabilidad (8 semanas / 4 °C). La microscopía electrónica de barrido del almidón modificado a 70 °C (AM-70) muestra cambios en la estructura de algunos gránulos, posiblemente debido a la gelatinización durante la modificación. Las microcápsulas obtenidas con este almidón presentaban agregados esféricos deformes, a diferencia de las microcápsulas del AN y del almidón modificado a 67 °C (AM-67) en donde se visualizan esferas uniformes. El AM-67 y AM-70 presentaron un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en la temperatura de gelatinización y una disminución significativa en la entalpía de gelatinización ( $\Delta H$  J/g) a diferencia del AN. La actividad de agua de las microcápsulas fue de  $0.150 \pm 0.01$  a  $0.257 \pm 0.01$  encontrándose dentro de los parámetros establecidos para su almacenamiento ( $a_w < 0.6$ ) La eficiencia de encapsulación del AN, AM-67 y AM-70 fue de 38.05%, 44.65% y 54.54%, respectivamente. Durante el almacenamiento de las microcápsulas de la semana 0 a la semana 8, hubo una disminución en el contenido de fenoles totales y antocianinas. En el caso del AN los porcentajes de pérdida fueron de 25.15% y 28.07%, para el AM-67 de 44.2% y 36.92% y en el AM-70 del 37.34% 25.04% respectivamente. Las microcápsulas del AN presentaron una disminución significativa en el transcurso de cada semana, a diferencia de las microcápsulas del AM-67 y AM-70, en donde la degradación fue mayor en las primeras 2 semanas y en las restantes hubo una degradación menor. Como conclusión, el tratamiento por

annealing cambió la estructura granular del almidón de malanga y la estabilidad durante el almacenamiento fue mejor en los AM. Estos datos son importantes para futuras investigaciones, ya que hasta el momento no se han reportado estudios similares.

**Palabras clave:** antocianinas, almidón, annealing, microcápsulas, secado por aspersión

## ABSTRACT

*Hibiscus sabdariffa* L. (HS) is characterized by its anthocyanin content. Its stability is affected by factors such as light, oxygen and temperature. Starch has been used as a wall material to encapsulate compounds and can be modified by hydrothermal treatments (annealing). The objective of this research was to evaluate the effect of thermal modification of malanga starch on the stability of bioactive compounds of *Hibiscus sabdariffa* L. extract microencapsulated by spray drying. The modification was performed at a 1:9 ratio (starch/water) at 67 °C and 70 °C / 48 hours. Bioactive compounds (BC) and antioxidant activity of HS extract were quantified; characterization of native starch (NS) and modified starches (MS) as well as microcapsules was performed, and stability (8 weeks / 4 °C) was evaluated. Scanning electron microscopy of starch modified at 70 °C (SM-70) showed changes in the structure of some granules, possibly due to gelatinization during modification. The microcapsules obtained with this starch presented deformed spherical aggregates, unlike the microcapsules of NS and starch modified at 67 °C (SM-67) where uniform spheres are visualized. SM-67 and SM-70 presented a significant increase ( $p < 0.05$ ) in gelatinization temperature and a significant decrease in gelatinization enthalpy ( $\Delta H$  J/g) in contrast to NS. The water activity of the microcapsules ranged from  $0.150 \pm 0.01$  to  $0.257 \pm 0.01$  within the established parameters for storage ( $a_w < 0.6$ ). The encapsulation efficiency of NS, SM-67 and SM-70 was 38.05%, 44.65% and 54.54%, respectively. During storage of the microcapsules from week 0 to week 8, there was a decrease in the content of total phenols and anthocyanins. In the case of NS the percentages of loss were 25.15% and 28.07%, for SM-67 44.2% and 36.92% and in SM-70 37.34% 25.04%, respectively. The microcapsules of NS showed a significant decrease in the course of each week, unlike the microcapsules of SM-67 and SM-70, where the degradation was higher in the first 2 weeks and in the remaining weeks there was a lower degradation. In conclusion, annealing changed the granular structure of malanga starch and storage stability was better in the MS. These data are important for future research as no similar studies have been reported to date.

Keywords: anthocyanins, anthocyanin, starch, annealing, microcapsules, spray drying

## INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son compuestos solubles en agua, se encargan de dar los colores característicos a las plantas, como rojo, morado y azul. Una de sus principales aplicaciones es que son utilizadas como colorantes, sin embargo, se ha visto que también tienen efectos benéficos para la salud debido a la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, ya que posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas y neuroprotectoras (Vergara et al., 2020). Algunos factores pueden influir en su estabilidad como son temperatura, la luz, el pH, los iones metálicos y el oxígeno, por lo cual se buscan técnicas que puedan proteger estos compuestos y mejorar su almacenamiento, como por ejemplo la microencapsulación mediante el secado por aspersion (Nguyen et al., 2021). La microcápsula se compone de una pared o revestimiento y el material que se desea encapsular (Bah et al., 2020; Ahmad et al., 2021). El almidón ha sido utilizado como material pared, para la encapsulación de algunos compuestos, como vitaminas, aceites esenciales, minerales y microorganismos, ya que es un material que no posee sabor, no es tóxico, es biodegradable y tiene un bajo costo (dos Santos et al., 2018; do Amaral et al., 2019; Choudhury et al., 2021). El almidón nativo puede presentar características desfavorables para su aplicación en alimentos, por lo que se han buscado alternativas para mejorar estas propiedades, como por ejemplo el annealing (Punia, 2020; Zarski et al., 2021). Annealing se refiere a un proceso físico en el que el almidón nativo se altera mediante la hidratación de los gránulos de almidón (>60% de agua), durante un período de tiempo determinado, sin elevar la temperatura a niveles de gelatinización. Durante este proceso, la estructura de los gránulos de almidón se conserva (Tester y Debon, 2000; Park y Kim, 2020). Es importante conocer las propiedades fisicoquímicas y térmicas del almidón para poder brindar una investigación más amplia y evaluar los factores que influyen en la microencapsulación de los compuestos (Fang et al., 2000).

## **1. ANTECEDENTES**

### **1.1. Compuestos antioxidantes**

Los compuestos antioxidantes se definen como moléculas suficientemente estables para donar electrones a un radical libre y neutralizarlo, reduciendo así su capacidad de daño (Lobo et al., 2010). Los antioxidantes proporcionan protección contra el daño oxidativo y enfermedades crónicas, estos se clasifican en 2 grupos, endógenos y exógenos. Los endógenos son producidos en el cuerpo como por ejemplo la superóxidodismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa, mientras que los exógenos forman parte de los alimentos vegetales y se obtienen a partir de la dieta; por ejemplo, la vitamina C, vitamina E, los carotenoides y los polifenoles, siendo estos últimos un grupo ampliamente distribuido en el mundo vegetal (Sharifi-Rad et al., 2020; Mucha et al., 2021).

### **1.2. *Hibiscus sabdariffa* L.**

*Hibiscus sabdariffa* L. pertenece a la familia de las Malvaceae, en México es conocida como “flor de Jamaica”, “Jamaica” o “Roselle”. En Nicaragua y Guatemala le nombran “Hamaiga” y “Rosa de Jamaica”. En países europeos es conocida como “Roselle” o “Rosella”, “Karkade” y “Red sorrel”. Es originaria de Asia (India y Malasia) y África. Se cultiva en regiones tropicales y subtropicales. (Ross, 2003; Ramirez-Rodrigues et al., 2011).

Se han clasificado 4 variedades de *Hibiscus sabdariffa* L. en México: “Alma blanca” y “Rosalíz” que son de color claro y “Cotzaltzin” y “Tecoanapa” de color rojo, las cuales están registradas en el Catálogo Nacional de Variedades de Vegetales del Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) de la SAGARPA, con las claves: JAM-001-260210, JAM-003-260210, JAM-002-260210) y JAM-004-260210 respectivamente (Ariza-Flores et al., 2014).

México se encuentra entre los principales países productores, aparte de China, Tailandia, Senegal y Tanzania (Ramirez-Rodrigues et al., 2011). La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) informó que en el año 2019 hubo una

producción nacional de 7 mil 889 toneladas, siendo el estado de Guerrero el mayor productor con 5 mil 810 toneladas, seguido de Michoacán (884 toneladas) y Guerrero (507 toneladas).

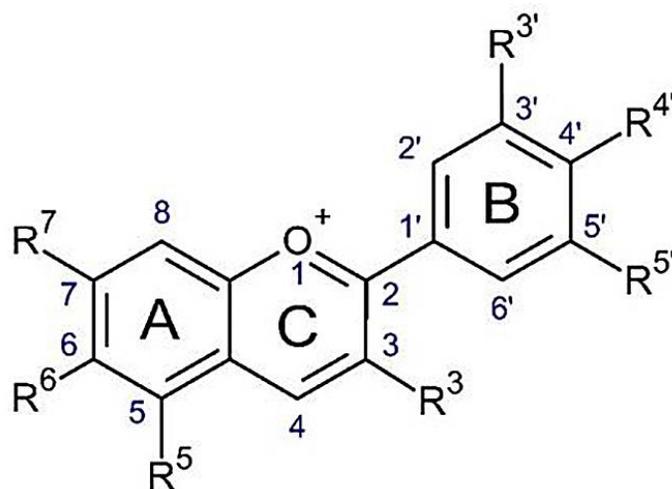
*Hibiscus sabdariffa* L. está compuesta por semillas, las hojas, los frutos y las raíces y todas las partes son aprovechadas en diversos alimentos (Islam, 2019), aunque la parte de la planta con mayor interés comercial son los cálices rojos, ya que en estudios se ha comprobado que posee una cantidad considerable de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos, entre los cuales se encuentran los flavonoides, ácidos fenólicos (ácido gálico, quercetina, kaempferol, ácido cafeico, ácidos clorogénicos), antocianinas (delfinidina-3-sambubiosido, cianidina-3-sambubiosido, cianidina 3,5-diglucósido, delfinidina), ácidos orgánicos (ácido hidroxycítrico, ácido de hibisco), entre otros. También se conoce como una fuente importante de pigmentos naturales gracias a las antocianinas, las cuales son las encargadas de proporcionar el color característico de los cálices (Ramirez-Rodriguez et al., 2011; Maciel et al., 2019; Sanou et al., 2022). Su color varía de blanco-amarillo al rojo intenso, lo cual tiene relación con su contenido fitoquímico. Los cálices oscuros muestran un mayor contenido de antocianinas, seguidos de los cálices rojos y rosados, mientras que los cálices blancos muestran un contenido insignificante o nulo de estos pigmentos (Morales-Luna et al., 2019).

### **1.3. Antocianinas**

Las antocianinas son colorantes solubles en agua, pertenecen a la clase de los flavonoides, brindan colores a las frutas, flores y hojas, que van del rojo al azul (Ribeiro y Veloso, 2021). El color que poseen depende en gran parte de su pH. Químicamente, las antocianinas son glucósidos polihidroxilados y/o polimetoxilados derivados del ión 2-fenilbenzopirilio (catión flavilio) (llamado aglicona o antocianidina) que contiene grupos -OH u -OCH<sub>3</sub>, que lleva uno o más residuos de azúcar o azúcar acilado (Oancea, 2021; Arruda et al., 2021).

La estructura base de una antocianina (Figura 1) está formada por un anillo aromático (anillo A), pegado a un anillo heterocíclico oxigenado (anillo C), que de igual manera está adherido a través de sus C3 al C1' de un segundo anillo aromático (anillo B). Las antocianidinas (agliconas) forman las estructuras básicas de las antocianinas. Se pueden clasificar en grupos según los tipos de agliconas; en las plantas se puede encontrar cianidina que brinda el color púrpura rojizo (50%), delphinidina el color rojo-azul (12%), pelargonidina el color rojo anaranjado (12%), peonidina el color magenta (12%), malvidina el color púrpura (7%) y por último petunidina que otorga el color rojo (7%) (Amogne et al., 2020; Arruda et al., 2021).

Un incremento en los grupos OH en la estructura de las antocianinas dan tonalidades azules, mientras que a mayores grupos OCH<sub>3</sub> se obtienen tonalidades rojas. El color también puede verse influenciado por la copigmentación; por ejemplo, la copigmentación de antocianidinas con flavonoides mejora la intensidad de su color (Oancea, 2021; Roy y Rhim, 2021).



**Figura 1.** Estructura química general de las antocianinas

Fuente: Arruda et al., 2021.

El interés por estudiar y utilizar las antocianinas va más allá de su capacidad como colorante y se orienta a los efectos benéficos que puede tener en la salud, como compuestos antioxidantes, antiinflamatorios, antiobesidad, antidiabéticos, antitumorales y neuroprotectores (Oancea, 2021). En la industria alimentaria se

caracterizan por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (naturales) y se utilizan como conservantes de los alimentos (Arruda et al., 2021).

Las antocianinas pueden transferir electrones a las especies reactivas de oxígeno (ROS) y brindar protección a biomoléculas oxidables importantes, como proteínas, ADN y ácidos grasos poliinsaturados. Por lo que se han considerado como un factor clave para la prevención en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas.

El daño oxidativo ocurre por la acción de las ROS, también conocidos como “radicales libres”, como por ejemplo el anión radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), el radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), las cuales producen peroxidación lipídica en las membranas celulares, activación de vías de señales específicas y productos tóxicos. El estrés oxidativo surge cuando hay un desequilibrio entre las condiciones oxidativas y el mecanismo antioxidante. Las antocianinas también cumplen un papel importante en la quelación de metales y la inhibición de enzimas oxidativas, para prevenir o inhibir el estrés oxidativo (Dangles y Fenger, 2018; Oancea, 2021).

Existen factores que pueden influir en la estabilidad de las antocianinas como son, altas temperaturas, exposición a la luz y el oxígeno, y la interacción con otros componentes de los alimentos (enzimas, ácido ascórbico, sulfitos, iones metálicos, otros compuestos fenólicos y azúcares). El pH afecta de manera significativa en la estructura de las antocianinas, ya que al haber un cambio en los valores puede provocar la formación de compuestos con diferentes colores, como amarillo, azul, morado, rojo e incluso incoloros.

Esta inestabilidad muestra la necesidad de aplicar métodos que permitan el uso o la incorporación de antocianinas en distintas matrices alimentarias, como por ejemplo la microencapsulación (Ribeiro y Veloso, 2021).

#### **1.4. Microencapsulación**

La microencapsulación es una técnica en donde pequeñas partículas de sólido, líquido o gas, quedan envueltas por una capa protectora (Ahmad et al., 2021). Esta tecnología tiene como objetivos producir microcápsulas que pueden liberarse en

determinadas condiciones y velocidad específica, recubrir el núcleo (compuesto activo) con un material pared, que lo va a proteger de condiciones adversas como por ejemplo el pH, la luz y el O<sub>2</sub> (do Amaral et al., 2019).

La microencapsulación forma una barrera entre las condiciones ambientales y los materiales del núcleo que generalmente son sensibles a estos factores, aumentando la seguridad alimentaria inhibiendo el crecimiento de microorganismos, va a evitar reacciones químicas o físicas que puedan alterar las propiedades sensoriales; también constituye una herramienta eficaz para la entrega de compuestos bioactivos como vitaminas, antioxidantes y minerales, en los alimentos (Sun et al., 2020).

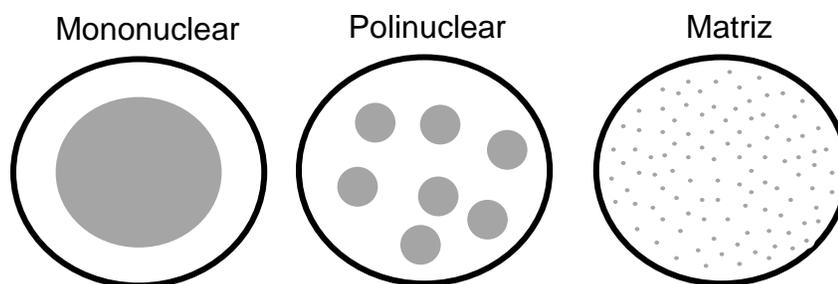
La microencapsulación en la industria alimentaria es utilizada para, disminuir la velocidad de las pérdidas y la evaporación del material del núcleo en el medio, proporcionar una liberación controlada del producto activo, enmascarar aromas y sabores desagradables y permitir que el material encapsulado se distribuya en una formulación alimentaria de manera homogénea. Una microencapsulación va a ser efectiva sólo si el material del núcleo se encuentra protegido hasta que se desee su liberación (do Amaral et al., 2019; Choudhury et al., 2021).

### **1.5. Composición de las cápsulas**

Una cápsula consta de 2 componentes, una pared, revestimiento o membrana y el material que se encuentra dentro de la microcápsula se conoce como núcleo, fase interna o relleno (Bah et al., 2020; Ahmad et al., 2021). De acuerdo con su tamaño las cápsulas son demasiado pequeñas y pueden variar de 1 a 1000 µm (Nahum y Domb, 2021). Se pueden clasificar en nanocápsula (<1 µm), microcápsula (3 -800 µm) y macrocápsula (1000 µm) (Singh et al., 2016).

El análisis morfológico de las micropartículas por lo regular se lleva a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), lo que permite una visualización cercana de la superficie de la partícula (Nahum y Domb, 2021). La morfología de las microcápsulas va a depender de la distribución del material del núcleo y del proceso

de deposición del material pared pueden ser catalogadas en mononuclear, polinuclear y matriz (Figura 2) (Saifullah et al., 2019).



**Figura 2.** Tipos de microencapsulados

Fuente: Reyna et al., 2015.

Las cápsulas mononucleares contienen un revestimiento exterior alrededor del núcleo, mientras que las cápsulas polinucleares tienen muchos núcleos encerrados dentro de una cubierta y en el caso de las cápsulas matriz (microesfera) el material del núcleo se distribuye de manera uniforme en el material pared. Igualmente es posible tener una cápsula mononuclear multicapa o una cápsula con forma irregular (Saifullah et al., 2019; Bah et al., 2020).

### **1.6. Técnicas de encapsulación**

La elección de la técnica de encapsulación depende de las propiedades del material pared y del núcleo, de los pasos de procesamiento, la tasa de liberación deseada, el tamaño de las partículas y la aplicación de las partículas cuando ya han sido encapsuladas (Saifullah et al., 2019).

El primer paso de la microencapsulación consta en formar una mezcla, en donde el material activo se mezcla con el material encapsulante. La mezcla se puede preparar con uno o dos agentes. Posteriormente, la mezcla se deshidrata, creando microcápsulas de diferentes formas y diámetros de acuerdo con el método de preparación y los materiales utilizados (do Amaral et al., 2019). Las técnicas que se utilizan en la microencapsulación son para mejorar la estabilidad y solubilidad del

compuesto. Su eficiencia va a depender de los agentes de encapsulación y parámetros operativos (Tupuna et al., 2018).

Existen distintas técnicas para producir microcápsulas y se pueden clasificar en tres grupos (Ribeiro y Veloso, 2021):

**Métodos físicos:** Secado por aspersion, enfriamiento por aspersion, extrusion, extrusion centrífuga de orificios múltiples, cocrystalización, recubrimiento en lecho fluidizado y liofilización.

**Métodos químicos:** inclusion molecular por complejacion y polimerizacion interfacial.

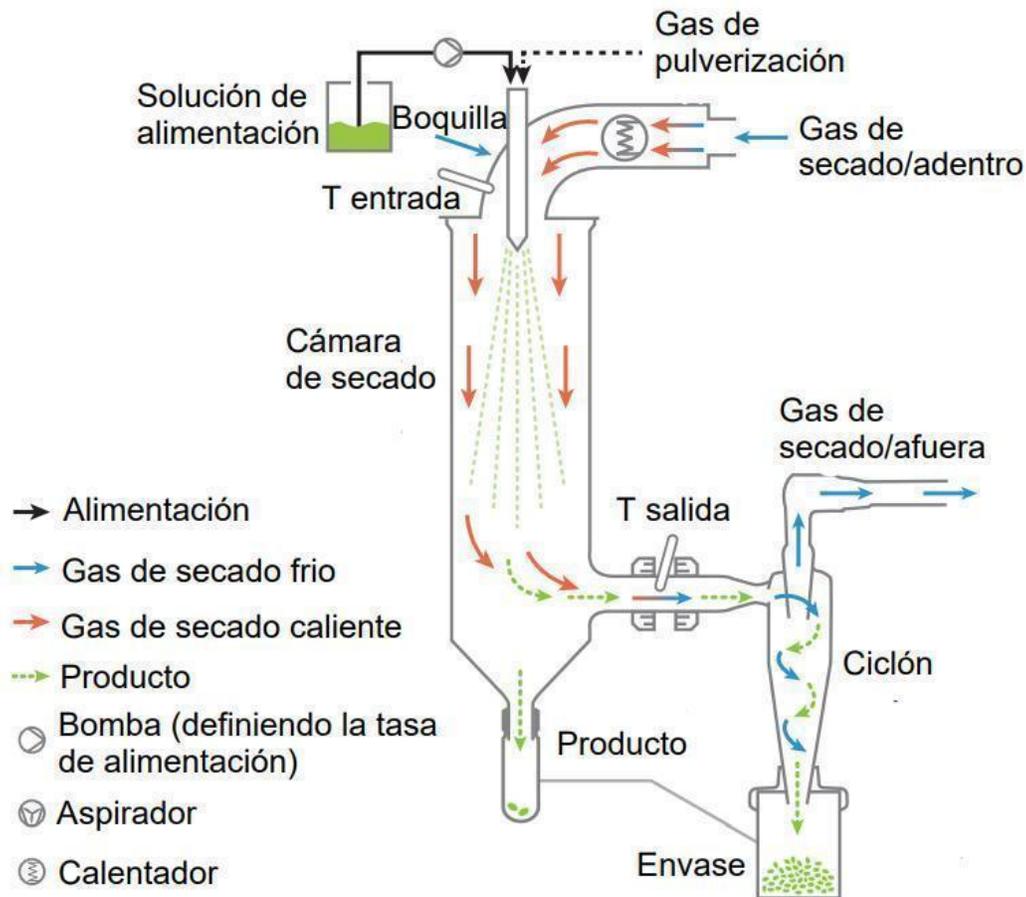
**Métodos fisicoquímicos:** separacion por coacervacion, sistema de emulsion y formacion de liposomas.

### **1.6.1. Secado por aspersion**

El secado por aspersion es una técnica que utiliza aire caliente para obtener un polvo a partir de una solución líquida (Jovanović et al., 2021). Esta tecnología se puede aprovechar para encapsular diferentes compuestos como por ejemplo probióticos, compuestos fenólicos, antioxidantes, agentes antimicrobianos, vitaminas, colorantes, sabores, aceites esenciales y grasas, enzimas y minerales (Ozkan et al., 2019).

Un secador por aspersion se compone de un depósito de alimentacion y una bomba de alimentacion, un atomizador, un calentador y un proveedor de gas de secado, una cámara de secado, un ciclón para la separacion de partículas secas y un ventilador de extraccion, así como un filtro para la salida del gas de secado. El procedimiento inicia cuando la solución entra en el atomizador mediante la bomba de alimentacion, el cual va a descomponer la solución líquida en pequeñas gotas que son conducidas al interior de la cámara de secado. Al mismo tiempo, un gas de secado caliente entra en la cámara de secado en sentido paralelo (en un estilo

contracorriente) a las gotas atomizadas. Dentro de la cámara, las gotas atomizadas se secan en pocos segundos, debido al contacto con el gas caliente y caen al fondo de la cámara, después son succionados al ciclón (enlazado a un ventilador de salida). Las partículas son separadas del aire de secado y se recolectan en el fondo de un envase o contenedor y por último el gas de secado se dirige hacia un filtro para la separación de partículas muy finas (Figura 3) (Assadpour y Jafari, 2019).



**Figura 3.** Proceso de secado por aspersión

Fuente: Assadpour y Jafari, 2019.

Es ampliamente utilizado por ser una técnica económica y de fácil aplicación, ofrece bajos costos de almacenamiento y transporte, proporciona una mejor estabilidad microbiológica y bioquímica de los productos, las cápsulas son de alta calidad, rápida solubilidad y tamaño pequeño. (Jovanović et al., 2021; Saberi Riseh et al., 2021).

Para proteger al núcleo de las tensiones experimentadas y mejorar su seguridad durante el almacenamiento en el proceso de secado por aspersion, se utilizan agentes de recubrimiento. Así el encapsulado proporciona una estabilidad mejorada frente a efectos negativos como la luz, el oxígeno, humedad, así como cubrir sabores desagradables y mejorar la estabilidad digestiva (Jovanović et al., 2021).

El material pared que se va a utilizar en este método abarca sustancias ligeramente viscosas que tienen propiedades de secado eficientes y una elevada solubilidad en agua (Saberri Riseh et al., 2021).

### **1.7. Materiales pared utilizados en la encapsulación de antocianinas**

Para elegir un material pared apropiado para el encapsulado es importante considerar sus propiedades fisicoquímicas como son solubilidad, cristalinidad, propiedades de formación de película, peso molecular, transición vítrea y costo; siendo de gran importancia para el rendimiento y la estabilidad de las microcápsulas (Mirzaei et al., 2021).

Dentro de la industria alimentaria el material utilizado en la microencapsulación debe ser químicamente inerte con el material del núcleo, de modo que no reaccione con el material del núcleo; mantener y sellar el compuesto del núcleo dentro de la cápsula, tener la capacidad de ofrecerle protección contra condiciones desfavorables; no concederle ningún sabor al producto; ser impermeable, con la capacidad de liberar el compuesto del núcleo en el momento y lugar apropiado; tener un bajo costo y cumplir con los estándares de seguridad alimentaria (Pech-Canul et al., 2020; Yang et al., 2020; Valle et al., 2021).

Entre los compuestos que se han utilizado como material pared en la encapsulación de antocianinas (Tabla 1) se encuentran proteínas (gelatina) y en carbohidratos (como derivados de celulosa, almidón, quitosano), los cuales se proponen de acuerdo con su función en las condiciones de procesamiento, la estabilidad fisicoquímica, propiedades sensoriales y nutricionales (Pech-Canul et al., 2020; Sadiq y Chandrapala, 2021).

**Tabla 1.** Materiales de pared utilizados para la encapsulación de antocianinas.

Material pared	Fuente	Resultados	Referencia
Maltodextrina (goma arábica y gelatina)	Agracejo ( <i>Berberis vulgaris</i> )	Eficiencia de encapsulación 86.06- 96.21%	(Mahdavi, et al., 2016)
$\beta$ -glucano y $\beta$ -ciclodextrina	Azafrán ( <i>Crocus sativus L.</i> )	Eficiencia de encapsulación 45% 63.25%	(Ahmad et al., 2018)
$\beta$ -Glucano Control (maltodextrina y goma arábica)	Saúco ( <i>Sambucus nigra</i> )	Eficiencia de encapsulación 93.91% 80.45% Almacenamiento por 7 días/25 °C % de degradación BG 5% y MD+GA 18%	(Sobieralska y Kurek, 2019)
Almidón	Salvado de arroz morado ( <i>Oryza sativa L.</i> )	Eficiencia de encapsulación 94.22% Mejor estabilidad durante el almacenamiento 4 °C/90 días	(Das et al., 2019)
Almidón	Papa roja ( <i>oxalis tuberosa</i> )	Eficiencia de encapsulación 86% Almacenamiento por 4 semanas	(Rosales-Chimal et al., 2023)

Entre los diferentes materiales de encapsulación que se utilizan durante el secado por aspersión se pueden encontrar los carbohidratos, como disacáridos, oligosacáridos, maltodextrina y el almidón (en forma nativa o modificado), los cuales se han utilizado ampliamente debido a su bajo costo, es biodegradable y no tóxico, puede extraerse fácilmente en forma pura, tiene elevada solubilidad en agua, baja viscosidad y resistencia a la oxidación (Ding et al., 2020; Samborska et al., 2021).

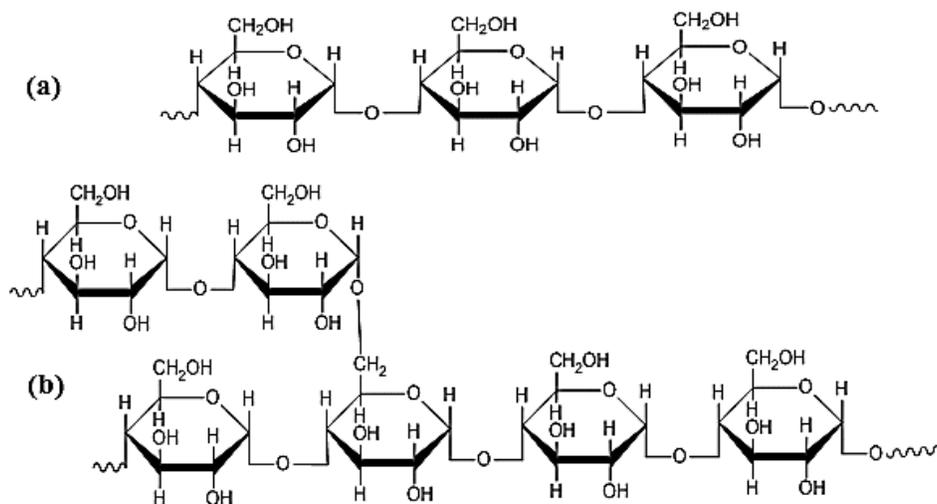
## **1.8. Almidón**

Desde hace mucho tiempo, el almidón se ha considerado un alimento primordial en todo el mundo. El almidón es un polisacárido a base de glucosa, se genera a partir de las plantas (tubérculos y legumbres) en raíces, tallos o las semillas de los cultivos, como glúcido de reserva; es más abundante en orgánulos de almacenamiento llamados amiloplastos. En la papa y el maíz, cada amiloplasto contiene un solo gránulo de almidón (gránulo simple), mientras que, en el arroz, avena, raíz de yuca, batata, sagú y dasheen dos o más gránulos se encuentran en un solo amiloplasto (gránulo compuesto) (Longas y Diaz, 2020; Samborska et al., 2021).

El almidón es una partícula semicristalina insoluble compuesta por dos tipos diferentes de polisacáridos, la amilosa y la amilopectina, los cuales contienen enlaces de glucosa  $\alpha$ -1,4. La amilosa es lineal, mientras la amilopectina presenta ramificaciones debido a que posee del 4-5% de enlaces  $\alpha$ -1,6 (Figura 4). Las moléculas de amilopectina contienen 3 tipos de cadenas, la cadena A son cadenas laterales que no llevan ramas en sí mismas, la cadena B son cadenas laterales que llevan ramas y la cadena C es la cadena central de la molécula de amilopectina. La composición de amilosa y amilopectina y las estructuras que forman, ocasionan la variedad de propiedades fisicoquímicas del almidón, la calidad del grano de cereal y su uso industrial (Katleen et al., 2014; Huang et al., 2021).

El porcentaje de amilopectina en la mayoría de los almidones es de 70% al 80% y un 20% y 30% de amilosa. En el almidón también se pueden encontrar lípidos (0.5-1.2%), los cuales se presentan libres o como complejo amilosa-lípidos. Otros

componentes que se encuentran en menor proporción son, proteínas, fósforo y minerales (Katleen et al., 2014; Collins et al., 2021).



**Figura 4.** Estructura química de amilosa (a) y amilopectina (b).

Fuente: Amaya-Pinos, 2019.

Existen almidones llamados comúnmente “cerosos”, compuestos en mayor proporción por amilopectina (maíz ceroso, papa cerosa), y son más estables a la retrogradación, mientras que los almidones que tienen alto contenido en amilosa se emplean como almidón resistente. En cuanto al tamaño de los gránulos de almidón varía de 1 a 100 nm de diámetro y va a depender de la compactación en la forma de la amilopectina, la cual está regida por la relación entre las ramas de la cadena larga y la cadena corta, lo que tiene un efecto en la compactación del almidón y el tamaño de los gránulos; su forma puede ser poligonal, esférica, lenticular u ovalada (Bashir y Aggarwal, 2019).

El almidón se puede clasificar en almidón nativo (no es sometido a ningún tratamiento), almidón modificado (su estructura ha sido modificada con tratamientos químicos, enzimáticos o físicos) y almidón hidrolizado (las cadenas que lo conforman se rompen, dando origen a azúcares simples) (Chung y Liu, 2009; Chung et al., 2010).

### 1.8.1. Almidón de malanga

La malanga (*Colocasia esculenta* L.), es un tubérculo que es consumido en muchas partes del mundo, su cultivo se debe principalmente a que es rico en carbohidratos y su principal componente es el almidón, el cual representa el 70-80% de la materia seca, tiene un alto contenido de proteína (5.60%), su porcentaje de cenizas, fósforo y lípidos es de 0.85%, 0.407% y 0.28%, respectivamente (Singla et al., 2020; Yamanouchi et al., 2021). El tamaño de gránulo de almidón varía entre 1 y 5  $\mu\text{m}$ , siendo el tamaño de gránulo más pequeño entre almidones de tubérculos y raíces (Pachau et al., 2018). La estructura de pequeños gránulos permite un empaquetamiento compacto, para la retención de compuestos activos. De igual manera se ha observado que el almidón de malanga forma agregados esféricos durante el secado por aspersión, esta agregación se relaciona con el contenido de proteína, la cual actúa como enlace para mantener la cohesión de los gránulos y proporciona estabilidad. Una ventaja muy importante es que la malanga tiene la capacidad de formar agregados esféricos sin la adición de agentes de unión (González-Soto et al., 2011; Hoyos-Leyva et al., 2018). En un estudio realizado en almidón nativo de arrurruz, mandioca, ñame chino, raíz de helecho, frijoles, semilla de loto, malanga y castaña de agua, se reportaron los valores más bajos de contenido de amilosa para la malanga con 17.12% y los valores más altos para los frijoles con un porcentaje del 35.62%, un bajo contenido de amilosa podría ser conveniente para su uso en el sector alimentario, de igual manera se observó que el almidón de malanga presentó los valores más altos de temperatura de gelatinización, con una temperatura pico de 85.31 °C y una entalpía de 12.48 J/g (Wang et al., 2018).

Es originario del sureste de Asia y su cultivo ocupa el quinto lugar en todo el mundo (Singla et al., 2020); pertenece a la familia de las Araceae, la planta tiene tallos largos (30 a 150 cm) con hojas grandes (10-50 cm de longitud), los pecíolos pueden ser verdes o violáceos de 0.2 a 1 m de longitud, posee una raíz tuberosa aproximadamente 10 cm de diámetro y presenta una pulpa de color blanco que es almidonosa (Ahmed y Khan, 2013; Azubuike et al., 2018).

## **1.8.2. Propiedades térmicas del almidón**

Las propiedades térmicas del almidón son relevantes para la calidad de los productos elaborados. Al aplicar calor y humedad en alimentos que contengan almidón, sucederá un cambio de fase llamado gelatinización. Cuando se toma en cuenta la transferencia de calor en el procesamiento de alimentos, la conductividad térmica del almidón tiene un papel considerable (Fang et al., 2000). Las propiedades de transporte térmico se ocupan en análisis cuantitativos relevantes de procesos térmicos como son el secado, la cocción por extrusión, la esterilización, entre otros (Wang y Brennan, 1992).

### **1.8.2.1. Gelatinización del almidón**

La gelatinización se conoce como una transición de fase irreversible de los gránulos de almidón de un estado ordenado a uno desordenado. El método más común consiste en calentar el almidón con cantidades de agua adecuadas, esto va a provocar el hinchamiento de los gránulos y la amilosa se va a disolver y difundir fuera de los gránulos hinchados que, al enfriarse formarán un gel homogéneo de amilosa-amilopectina. Los gránulos hinchados enriquecidos con amilopectina se van a agregar en partículas de gel, generando una solución viscosa (Katleen, 2014; Omoregie, 2019). La temperatura máxima de gelatinización es mayor para las fracciones de gránulos pequeños, que incide en las diferencias de la distribución de la longitud de la cadena de amilopectina. El tiempo de gelatinización se ve afectado generalmente por el tamaño de los gránulos de almidón (Cornejo-Ramírez et al., 2018).

La gelatinización se puede dar en 2 etapas, la primera es cuando el gránulo se hincha debido a la ruptura de los enlaces de hidrógeno en las porciones amorfas del almidón y la segunda en donde existe una ruptura de los enlaces intermoleculares del almidón y existe una mayor absorción de agua, el gránulo de almidón se rompe y la amilosa se va a liberar formando un gel (Ratnayake y Jackson, 2008).

Posterior a la gelatinización se produce la retrogradación, en donde el almidón gelatinizado cambia de un estado amorfo a una estructura ordenada diferente. Este proceso consiste en formar enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de moléculas de almidón adyacentes, seguida de la agregación de las dobles hélices formadas. Generalmente los almidones con mayor contenido de amilosa se relacionan con mayores tasas de retrogradación, debido a que la recristalización de la amilosa ocurre en un periodo de tiempo corto, mientras que la recristalización en la amilopectina ocurre en un tiempo mucho más lento (impedimento estérico). En cuanto a las cadenas cortas y medianas de la amilosa muestran interacciones más rápidas y fuertes durante la retrogradación, construyendo una red de gel con células más pequeñas, delgadas y densas (Li et al., 2020).

El almidón contiene fracciones de proteínas, fibra y lípidos. Su contenido afecta las propiedades funcionales del almidón. Los lípidos forman complejos con la amilosa, modificando la temperatura de gelatinización, disminución de la solubilidad en agua, resistencia del gel, retrogradación e índice de hinchamiento (Bashir y Aggarwal, 2019).

### **1.8.3. Modificaciones del almidón**

Cuando el almidón está en su forma nativa puede presentar algunas características desfavorables para su uso como son mayor retrogradación y sinéresis, inestabilidad con respecto a los cambios de temperatura, pH y fuerza de cizallamiento. Sin embargo, el almidón posee propiedades importantes para la rama de la industria alimentaria. Dentro de sus beneficios se sabe que proviene de fuentes naturales, su costo es bajo, es biodegradable, no posee color ni sabor y es de fácil disponibilidad. Por ello se han buscado alternativas que mejoren estas propiedades modificando el almidón nativo por métodos físicos (térmicos y no térmicos), químicos o enzimáticos (Punia, 2020; Zarski et al., 2021), entre estas modificaciones la modificación física se considera segura en comparación con la modificación química ya que, se producen menos desechos y no involucra agentes químicos, también puede ser más económica (Liu y Lai, 2021; Schafranski et al., 2021).

### 1.8.3.1. Tratamiento hidrotérmico por annealing

El annealing o también llamado recocado es una modificación física del almidón nativo, el cual consiste en la hidratación de los gránulos de almidón en exceso de agua (> 60%) por un determinado periodo de tiempo, sin llegar a la temperatura de gelatinización, pero por encima de la temperatura de transición vítrea, en donde la arquitectura del gránulo se conserva (Tester y Debon, 2000; Park y Kim, 2020). Durante este proceso ocurre una reorganización de las moléculas del almidón, de modo que la doble hélice de la amilopectina adquiere una configuración más organizada. La movilidad de la cadena de almidón puede variar según la fuente de almidón que se utilice (Gomes et al., 2005; da Rosa y Dias, 2011).

Entre los efectos que tiene el annealing sobre las características del almidón, se ha encontrado un incremento en la temperatura de transición, aumento o ningún efecto sobre la entalpía, disminución en la lixiviación de amilosa y poder de hinchamiento de los gránulos, menor retrogradación y viscosidad. Existe una estabilidad en los gránulos, elevada temperatura de gelatinización y cristalinidad (Tester y Debon, 2000; Park y Kim, 2020).

En algunos estudios realizados en pastas con almidón de papa y trigo se observa que la viscosidad aumenta durante el annealing, mientras que para las lentejas y avena tiende a disminuir (Tester y Debon, 2000; Zdybel et al., 2021).

Wang et al. (2017) investigaron las modificaciones del almidón de papa, ñame y trigo a temperaturas de 30, 40 y 50 °C, en donde se vio que la temperatura de gelatinización de los 3 almidones aumentó en el tratamiento a 50 °C, pero tuvo poco efecto sobre la entalpía, en el análisis de viscosidad para el tratamiento a 50 °C la papa presentó un aumento y en el trigo hubo una disminución. El aumento de las temperaturas de gelatinización y la viscosidad se relacionaron a un mayor ordenamiento de las cadenas del almidón en las regiones amorfas. Estudios más recientes realizados en almidón de Oca (*Oxalis tuberosa*) y almidón de *Castanopsis sclerophylla* reportaron un aumento en la temperatura de gelatinización con el

tratamiento de annealing, así como disminución en el poder de hinchamiento y solubilidad (Puelles-Román et al., 2021; Shi et al., 2021).

### **1.9. Usos del almidón como material pared**

El almidón posee varias propiedades que lo convierten en un material ampliamente utilizado para la encapsulación de compuestos. Es un material inodoro, sin sabor, biodegradable, se deriva de fuentes renovables, tiene un bajo costo y no es tóxico, de igual manera tiene la facilidad de que sus propiedades fisicoquímicas sean modificadas (dos Santos et al., 2018; Pech-Canul et al., 2020).

El almidón posee espacios abiertos o porosos, siendo una especie de partícula hueca (con aspecto de panal de abejas), que tiene una gran capacidad de adsorción y puede contener a diversas sustancias (Yang et al., 2020). Los almidones que contienen en su estructura gránulos pequeños ( $<10\mu\text{m}$ ), son estructuras viables para la microencapsulación de compuestos bioactivos (Hoyos-Leyva et al., 2018).

La microencapsulación ha sido utilizada en la industria farmacéutica, textil, alimentaria, agroquímica y cosmética, para preservar compuestos valiosos y sensibles a las condiciones ambientales adversas (Ozkan et al., 2019; Dhakal y He, 2020).

En la industria alimentaria ha demostrado ser una herramienta eficaz para la encapsulación de aceites esenciales y vitaminas, protegiéndolos de la oxidación y enmascarando sabores desagradables; e alimentos como cereales, productos lácteos y bebidas para bebés, que son adicionados con minerales aumentando su valor nutricional; así como, en la protección de microorganismos probióticos durante su paso por el tracto gastrointestinal, asegurando su liberación en el intestino grueso. En algunos colorantes, mejorando su estabilidad a la oxidación, solubilidad y aumentando su vida útil (do Amaral et al., 2019; Dhakal y He, 2020; Choudhury et al., 2021). Los antioxidantes son sustancias bioactivas que pueden verse afectadas por la luz, la temperatura, el oxígeno y la humedad, esta tecnología es una alternativa para mejorar su estabilidad y almacenamiento (Ozkan et al., 2019).

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Actualmente, el uso de la encapsulación de compuestos bioactivos es una tecnología que está ampliando el campo de la investigación en la industria alimentaria y de la salud, con un gran potencial para el desarrollo de nuevos productos. Es importante la selección de un buen material pared para proteger a estos compuestos del ambiente externo, el almidón nativo ha sido utilizado en estudios como material pared, sin embargo, puede ser modificado para mejorar sus propiedades, por lo que se han buscado alternativas como el annealing, la cual es una modificación física del almidón, que se considerada segura y económica y en estudios se ha observado que brinda una mejor estabilidad térmica.

Por lo que es importante conocer las propiedades fisicoquímicas y térmicas del almidón para poder brindar una investigación más amplia y evaluar los factores que influyen en la microencapsulación de las antocianinas.

### 3. OBJETIVOS

#### Objetivo General

Evaluar el efecto de la modificación térmica del almidón de malanga en la estabilidad de los compuestos bioactivos del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L. microencapsulados mediante secado por aspersión.

#### Objetivos específicos

- Cuantificar compuestos bioactivos del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L., así como su actividad antioxidante
- Modificar térmicamente el almidón nativo de malanga
- Caracterizar morfológica, fisicoquímica y estructuralmente el almidón nativo y los almidones modificados de malanga
- Microencapsular el extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. mediante secado por aspersión utilizando almidón nativo y modificado de malanga como material de pared y evaluar la eficiencia de encapsulación.
- Caracterizar morfológica y fisicoquímicamente las microcápsulas obtenidas
- Evaluar la estabilidad de los compuestos bioactivos encapsulados durante el almacenamiento

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Materiales**

Para este estudio se utilizó *Hibiscus.sabdariffa* L. proveniente del estado de Guerrero y malanga (*Colocasia esculenta* L.), cultivada en la localidad de Actopan, en el estado de Veracruz.

### **4.2. Métodos**

En las Figuras 5 y 6 se muestran la metodología que se utilizó, la cual se dividió en 2 etapas; etapa 1) Caracterización del almidón nativo y modificado y cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L. (Figura 5), etapa 2) Caracterización del microencapsulado del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. mediante el secado por aspersion y evaluación de la estabilidad de las microcápsulas (Figura 6).

#### **4.2.1. Extracción de compuestos bioactivos**

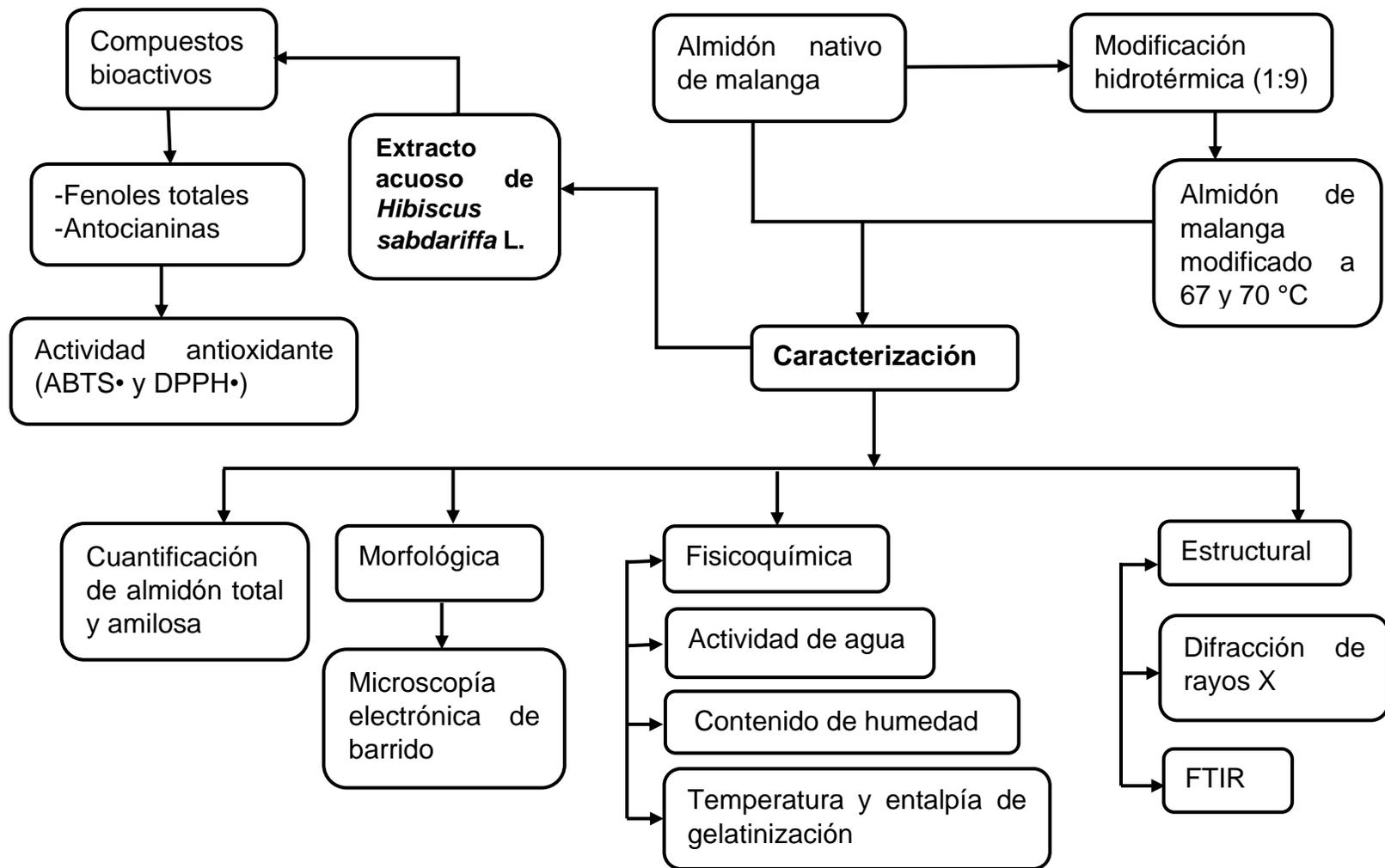
Se realizó siguiendo la metodología propuesta por Ramirez-Rodrigues et al. (2011) con algunas modificaciones en el tiempo de extracción y de temperatura. Las condiciones fueron hervir 20 mL de agua a 100 °C y posteriormente se adicionaron 1 g de cálices durante 7 min.

#### **4.2.2. Cuantificación de compuestos bioactivos**

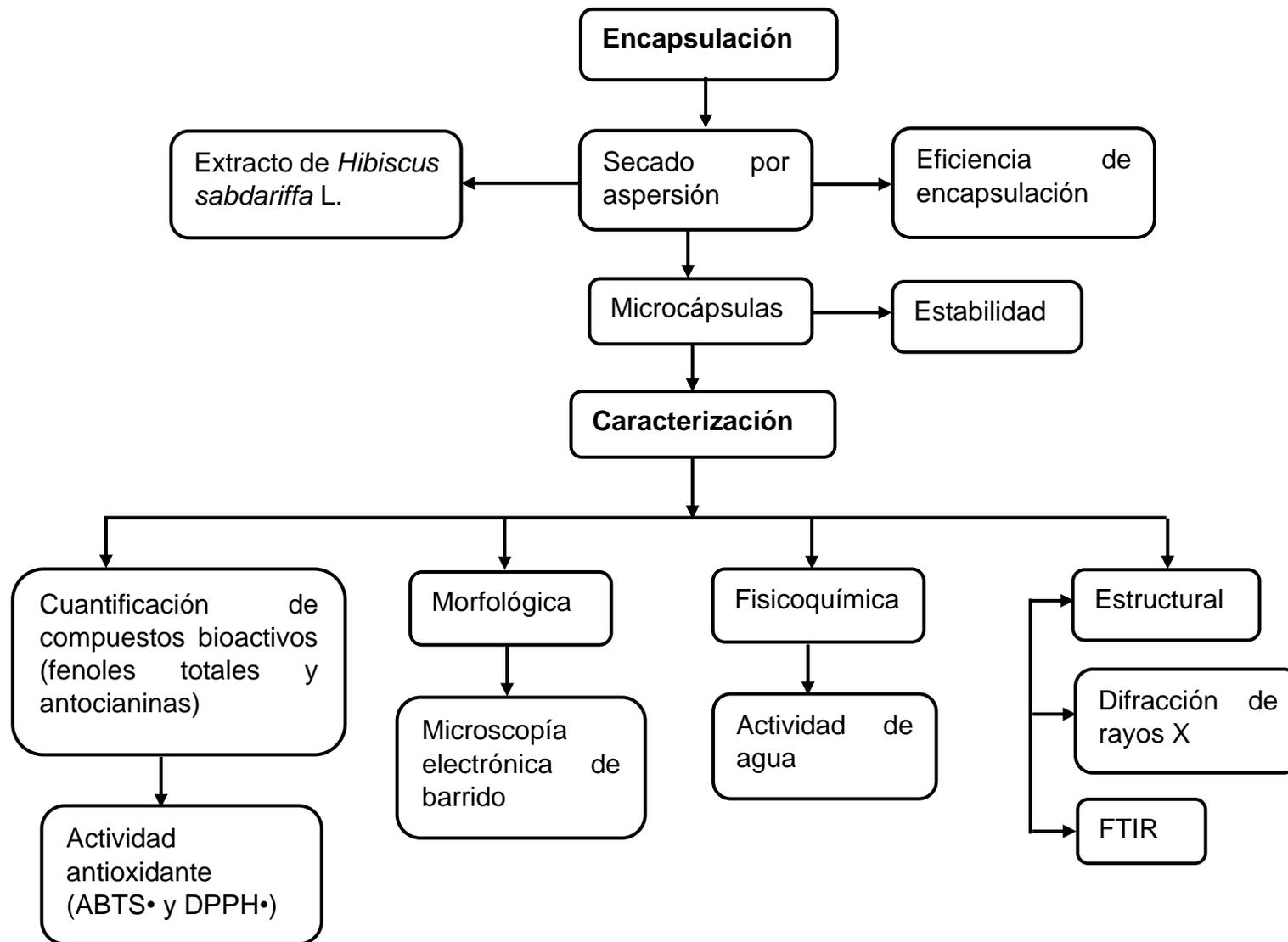
##### **4.2.2.1. Fenoles totales**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron a través del método de Folin-Ciocalteu siguiendo la metodología descrita por Pękal y Pyrzynska (2014), con modificaciones de Vargas-León et al. (2018). En microtubos se colocaron 250 µL de los diferentes extractos, 625 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 500 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7.5%, la mezcla se agitó y se dejó en reposo por 2 h, posteriormente se midió la absorbancia a 760 nm. Para determinar la concentración de cada extracto se utilizó

una curva estándar de 0 a 100 ppm de ácido gálico (AG) y el resultado se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de cáliz de flor de Jamaica.



**Figura 5.** Etapa 1 caracterización del almidón nativo y modificado y cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L.



**Figura 6.** Etapa 2 caracterización del microencapsulado de antocianinas mediante el secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de las microcápsulas.

#### 4.2.2.2. Antocianinas monoméricas

La determinación de antocianinas monoméricas totales se determinó de acuerdo con la metodología de Del Carpio-Jiménez et al. (2009) con modificaciones. En un microtubo de 10 mL se adicionaron 4 mL de solución buffer pH 1 (KCl, 0.025 M) y en otro, 4 mL de solución buffer pH 4.5 (CH<sub>3</sub>COONa, 0.4 M), a cada tubo se le adicionaron 2 mL de extracto de *Hibiscus.sabdariffa* L. y se midió su absorbancia a 510 nm (longitud de onda de máxima absorbancia de las antocianinas) y a 700 nm en el espectrofotómetro Thermo Scientific (Modelo GENESYS 10S VIS, E.U.A.), utilizando como blanco el buffer correspondiente.

La absorbancia final ( $A_F$ ) se calculó con la siguiente ecuación:

$$A_F = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$$

El valor de la absorbancia se sustituyó en la siguiente ecuación para obtener la concentración de antocianinas:

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/L)} = \frac{A * PM * FD * 1000}{\xi * 1}$$

Donde  $\xi$  y PM, corresponden a la absortividad molar y peso molecular de la antocianina que predomina en la muestra respectivamente y FD es el factor de dilución (volumen total / volumen de extracto). Dado que una de las antocianinas predominantes en el extracto comercial es la cianidina-3-glucósido, se utilizó su absortividad molar ( $\xi$ : 26,900) y peso molecular de 449.2 g/mol. El resultado obtenido fue expresado como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido en 100 g de muestra.

#### 4.2.3. Actividad antioxidante

##### 4.2.3.1. Actividad antioxidante por el método de ABTS•

Al extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. se le determinó la actividad antioxidante por el método de ABTS• siguiendo la metodología propuesta por Re et al. (1999) con algunas modificaciones. El radical ABTS• se preparó mezclando una solución de

ABTS• 7.4 mM y con una solución de persulfato de potasio 2.6 mM en partes iguales y permitiéndoles reaccionar durante 12 h a temperatura ambiente en oscuridad. La solución se mezcló con etanol para ajustarla a una absorbancia de  $0.70 \pm 0.02$  a 734 nm utilizando el espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo GENESYS 10S VIS, E.U.A.); 25, 50 y 75  $\mu\text{L}$  de extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. se hicieron reaccionar con 1950  $\mu\text{L}$  del catión radical ABTS• por 7 min., posteriormente se determinó la absorbancia a 734 nm usando un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo GENESYS 10S VIS, E.U.A.). Los resultados se expresaron como actividad antioxidante equivalente de Trolox por 100 g de muestra.

#### **4.2.3.2. Actividad antioxidante por el método de DPPH•**

La capacidad de eliminación de radicales libres por DPPH• del extracto de *Hibiscus.sabdariffa* L. se evaluaron de acuerdo con el método de Chen y Ho (1995) con ligeras modificaciones. Para la actividad antirradical se utilizó una modificación del método 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH•). Este método evaluó la actividad de las sustancias frente a una solución de DPPH• (color violeta intenso), la intensidad de este radical se ve afectada (disminuye) en relación con la cantidad de sustancias presentes en la muestra con capacidad para neutralizar a este radical libre. La solución de DPPH• que se utilizó fue a 0.1 mM disuelta en metanol, se preparó inmediatamente antes de ser utilizada protegiéndola de la luz para evitar su degradación y ajustando su absorbancia a  $0.50 \pm 0.02$ . Para la curva estándar se utilizó Trolox a 1 mM, se protegió de la luz y las concentraciones que se utilizaron fueron a 40, 80, 120,160, 200 y 240  $\mu\text{M}$ . A cada tubo de ensayo se adicionaron 2000  $\mu\text{L}$  de solución de DPPH• y 200  $\mu\text{L}$  de cada una de las disoluciones de trolox o del extracto. La solución resultante se agitó y se protegió de la luz, manteniéndose a temperatura ambiente durante 30 min, se realizó la lectura de la absorbancia a 520 nm, se utilizó metanol para ajustar a cero la lectura en el equipo.

#### **4.2.4. Obtención del almidón de malanga**

Para la obtención del almidón se empleó la metodología propuesta por Flores-Gorosquera et al. (2004). Al tubérculo se le eliminó la cáscara con ayuda de un

cuchillo, se cortó en trozos pequeños y se molió en una licuadora tipo industrial (international, Mod.Li 12<sup>a</sup>, México), durante 2 min a una velocidad baja y después se molió nuevamente en una licuadora doméstica (Oster modelo bpst02-b, México) a la máxima velocidad. Se pasó por un tamiz con malla del No. 200, y el bagazo retenido se volvió a moler y posteriormente se pasó por un tamiz con malla No. 325, haciendo lavados al bagazo retenido con agua destilada en la misma malla hasta que el agua del lavado fue clara. Posteriormente, se realizaron lavados con agua purificada al filtrado obtenido, dejando sedimentar el almidón en cada lavado y sustituyendo el sobrenadante por agua nueva, esta operación se repitió hasta obtener un sobrenadante transparente. El almidón se deshidrató en un horno de convección (Modelo shel-lab 1380fx, E.U.A.) a 40 °C por 24 h. Finalmente, el almidón obtenido se molió (molino hamilton beach modelo 80393, China) y pasó a través de un tamiz de malla No. 100 y se almacenó a temperatura ambiente hasta su utilización.

#### **4.2.5. Modificación hidrotérmica del almidón**

La modificación hidrotérmica del almidón se llevó a cabo en una proporción 1:9 almidón:agua destilada. La mezcla se colocó a baño maría a dos temperaturas distintas 67 y 70 °C durante 48 h, posteriormente la mezcla se vació en charolas de aluminio y se secó a 40 °C por 24 h en un horno convencional (Modelo shel-lab 1380fx, E.U.A.).

#### **4.2.6. Pureza del almidón**

Para evaluar la pureza del almidón, se calculó el contenido de almidón total de acuerdo con el método propuesto por la AACC 76-13.01. propuesto por la AACC utilizando el kit Megazyme (Método amiloglucosidasa/  $\alpha$ -amilasa). Se pesaron 100 mg de almidón (peso seco) en tubos de vidrio con tapa, el cual fue humedecido con 0.2 mL de etanol (80% v/v) y se mezcló con el apoyo de un vórtex. Se agregaron 2 mL de KOH 2M agitándose por 20 minutos. Posteriormente se añadieron 8 mL de buffer de acetato de sodio (pH 3.8) a cada tubo e inmediatamente se agregaron 0.1 mL de  $\alpha$ -amilasa termoestable y 0.1 mL de amiloglucosidasa, se mezcló y se incubó en un baño maría a 50 °C durante 30 min. Después el líquido se transfirió a un matraz

de 100 mL y fue aforado con agua destilada, se mezcló y centrifugó una alícuota a 258 g (1800 rpm) por 10 minutos. Se transfirió 0.1 mL del sobrenadante a un tubo (por duplicado). Se añadieron 3 mL del reactivo GOPOD a cada tubo (incluyendo controles de glucosa y blanco) y después se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Para el control de glucosa se agregaron en un tubo: 0.1 mL de D-Glucosa y 3 mL de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD) y se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Para el blanco se agregaron 0.1 mL de agua destilada y 3 mL de GOPOD y se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Por último, las absorbancias se leyeron en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo GENESYS 10S VIS, E.U.A.) a una longitud de onda de 510 nm.

#### **4.2.7. Amilosa aparente**

El contenido de amilosa se determinó por una modificación de Hoover y Ratnayake, (2001) al método propuesto por McGrance et al. (1998). Se disolvieron 50 mg de almidón (base seca) en 8 mL de hidróxido de potasio (KOH), la mezcla se dejó agitando por 12 h, y después se ajustó el pH a 7, posteriormente se tomó una alícuota de 1 mL de la solución y se transfirió a un matraz aforado de 50 mL, se adicionaron 40 mL de agua destilada y 5 mL de una solución de I<sub>2</sub>/IK, se aforó y se dejó reposar por 15 min a temperatura ambiente, por último se leyó a una absorbancia de 600 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo GENESYS 10S VIS, E.U.A.).

#### **4.2.8. Caracterización morfológica**

##### **4.2.8.1. Microscopía electrónica de barrido**

Para la morfología de los gránulos del almidón se utilizó el método reportado por Paredes-López et al. (1988). La muestra de almidón se esparció sobre una cinta conductora de cobre de doble adhesión, la cual se fijó previamente en un portamuestras de aluminio del microscopio electrónico de barrido (LEO Electron Microscopy, Leo 1525, Oberkochen, Alemania). La muestra se cubrió con una capa de carbón de 30 nm. Las muestras se colocaron en el ionizador de metales JEOL y fueron recubiertas con una capa de oro.

## **4.2.9. Caracterización fisicoquímica**

### **4.2.9.1. Actividad de agua**

Se utilizó un medidor de actividad de agua (Aqua LAB V. 2.2, Modelo 3TE, Decagon Devices, Inc., E.U.A.), como primer paso se calibró el equipo con carbón activado ( $a_w < 0.500$ ) y agua destilada ( $a_w = 1.000 \pm 0.003$ ); posteriormente se pesó 1g de muestra y se introdujo a la cámara del equipo, la lectura se realizó por triplicado.

### **4.2.9.2. Contenido de humedad**

El contenido de humedad se determinó utilizando una termobalanza (A&D Weighing, modelo MS-70, Japón), con una precisión media. En charolas de aluminio se pesaron 5 g de las muestras de almidón y se utilizó una temperatura de 105 °C durante 20 min. La lectura se realizó por triplicado.

### **4.2.9.3. Temperatura y entalpía de gelatinización**

La temperatura y entalpía de gelatinización propiedades térmicas de los almidones se analizaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, Modelo Q2000, New Castle, E.U.A.). Se evaluaron de acuerdo con el método propuesto por Paredes-López et al. (1994). Se pesaron 2 mg de muestra dentro de una charola de aluminio (tzero aluminium hermetic), posteriormente se le adicionaron 7  $\mu$ L de agua destilada. La charola fue sellada herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 30 min antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a calentamiento en un intervalo de temperatura de 30 a 130 °C a una velocidad de 10 °C/min. La determinación se realizó por triplicado. La temperatura de inicio ( $T_i$ ), la temperatura de gelatinización o de pico ( $T_p$ ), la temperatura final ( $T_f$ ) y la diferencia de entalpía ( $\Delta H$ ) se obtuvieron del análisis realizado con el software TA Instruments versión 4.7.4.

#### **4.2.10. Caracterización estructural**

##### **4.2.10.1. Difracción de rayos X**

El patrón de cristalinidad del almidón se estudió mediante difracción de rayos X. Los patrones de difracción de rayos X de los almidones se obtuvieron mediante un difractómetro (Bruker AXS, Modelo D2 PHASER A26-X1-A2B0B2A1, Alemania), con un detector LYNXEYE XE-T y como fuente de radiación cromo (Cr), cobalto (Co) y cobre (Cu). El difractómetro se operó 30 mA y 40 kV. La región de barrido con ángulo dos teta fue de 5° a 40° con un tamaño de paso de 0.05°, con un tiempo de conteo de 1 segundo (Chen et al., 2019; Wongsagonsup et al., 2021). Los resultados se analizaron en el programa Origin 7, en el gráfico se delimitaron los puntos de los picos característicos del almidón de malanga para conocer el área cristalina. El área amorfa correspondió a la resta del área total menos el área cristalina.

El porcentaje de cristalinidad se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Cristalinidad \%} = \left( \frac{Ac}{Aa + Ac} \right) * 100$$

Donde:

Ac= área cristalina sobre el difractograma de rayos X

Aa= área amorfa sobre el difractograma de rayos X.

##### **4.2.10.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier**

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) del almidón nativo y los almidones modificados se examinaron en un espectrofotómetro (Perkin Elmer modelo Spectrum Two, E.U.A) en el rango de 4.000 cm<sup>-1</sup> a 570 cm<sup>-1</sup> con 16 barridos y 4 cm<sup>-1</sup> de resolución.

##### **4.2.11. Microencapsulación del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.**

Previo a la microencapsulación se realizó una dispersión del almidón, al 25% de sólidos, con el extracto de *Hibiscus sabdariffa* L., la cual se mantuvo en agitación constante durante 5 minutos. Posteriormente la dispersión fue alimentada al secador

(Mini Spray B-290, BUCHI Corporation, New Castle, DE). Las condiciones de secado que se aplicaron fueron: temperatura de entrada de 118 °C, a una velocidad de alimentación de 7 mL/min. (Hernández-Bautista datos no publicados).

#### **4.2.11.1. Eficiencia de encapsulación**

Se determinó siguiendo la metodología propuesta por Ávila-Reyes et al. (2014) a través de la liberación de las antocianinas microencapsuladas. Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantuvo en agitación durante 10 minutos. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 25 mL, posteriormente se siguió la metodología del apartado 4.2.2.2. Finalmente se calculó la eficiencia de encapsulación aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Eficiencia de Encapsulación} = (N/N_0) * 100$$

Dónde:

N= Concentración de antocianinas después de la encapsulación

No= Concentración de antocianinas antes de la encapsulación

#### **4.2.12. Estabilidad de las microcápsulas**

##### **4.2.12.1. Almacenamiento**

Para determinar la estabilidad de los compuestos bioactivos se realizó una prueba de almacenamiento. Las muestras se guardaron en frascos ámbar y bolsas ziploc con sílica gel, se mantuvieron en refrigeración a 4 °C por 8 semanas. Posteriormente, se tomaron muestras semanalmente para cuantificar el contenido de fenoles totales (apartado 4.2.2.1.) y antocianinas monoméricas (apartado 4.2.2.2); así como la actividad antioxidante (apartado 4.2.3).

#### **4.2.13. Contenido de compuestos bioactivos**

##### **4.2.13.1. Fenoles totales**

Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantuvo en agitación durante 10 minutos. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 25 mL. Para cuantificar fenoles totales de acuerdo con la técnica descrita en el apartado 4.2.2.1.

##### **4.2.13.2. Antocianinas monoméricas**

Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantuvo en agitación durante 10 minutos. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 25 mL. Para cuantificar las antocianinas de acuerdo con la técnica descrita en el apartado 4.2.2.2.

##### **4.2.13.3. Antocianinas monoméricas en la superficie de las microcápsulas**

Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 15 segundos en un vórtex. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 10 mL. Para cuantificar las antocianinas de acuerdo con la técnica descrita en el apartado 4.2.2.2.

#### **4.2.14. Actividad antioxidante**

##### **4.2.14.1. Actividad antioxidante por el método de ABTS•**

Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantuvo en agitación durante 10 minutos. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 40 µL, se añadieron 960 µL de agua destilada y se aforó a 2 mL. Para cuantificar la actividad antioxidante por el método de ABTS• descrito en el apartado 4.2.3.1.

#### **4.2.14.2. Actividad antioxidante por el método de DPPH•**

Se pesaron 200 mg del encapsulado en 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%). Se agitó por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantuvo en agitación durante 10 minutos. La muestra se centrifugó a 5000 rpm durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante, se tomó una alícuota de 40  $\mu$ L, se añadieron 960  $\mu$ L de agua destilada y se aforó a 2 mL. Para cuantificar la actividad antioxidante por el método de DPPH• descrito en el apartado 4.2.3.2.

#### **4.2.15. Caracterización morfológica**

##### **4.2.15.1. Microscopía electrónica de barrido**

La morfología de las microcápsulas se determinó mediante la microscopía electrónica de barrido con el método descrito en el apartado 4.2.8.1.

#### **4.2.16. Caracterización fisicoquímica**

##### **4.2.16.1. Actividad de agua**

Para la actividad de agua se utilizó el equipo Aqua LAB V. 2.2 (Mod. 3TE, Decagon Devices, Inc., EE. UU.), con el método descrito en el apartado 4.2.9.1.

#### **4.2.17. Caracterización estructural**

##### **4.2.17.1. Patrón de difracción de rayos X**

Los patrones de difracción de rayos X de las microcápsulas se obtuvieron mediante un difractómetro (Bruker AXS, Modelo D2 PHASER A26-X1-A2B0B2A1, Alemania). El difractómetro se operó a 27 mV y 50 kV. La región de barrido con ángulo dos teta fue de 5° a 40° con un tamaño de paso de 0.05°, con un tiempo de conteo de 1.75 segundos.

#### **4.2.17.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier**

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de las microcápsulas se examinaron en un espectrofotómetro (Perkin Elmer modelo Spectrum Two, E.U.A) en el rango de  $4.000\text{ cm}^{-1}$  a  $570\text{ cm}^{-1}$  con 16 barridos y  $4\text{ cm}^{-1}$  de resolución.

#### **4.3. Análisis estadístico**

Se realizó una prueba de normalidad y de homogeneidad de varianza, al igual que un análisis de varianza ANDEVA con un nivel de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ), para encontrar diferencias estadísticas se utilizó la prueba de comparación de medias múltiple de Tukey al mismo nivel de significancia, así como un ANDEVA de 2 vías para las semanas de almacenamiento con el programa estadístico Sigma Plot 14.0.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Caracterización del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

#### 5.1.1. Cuantificación de compuestos bioactivos

*Hibiscus sabdariffa* L. ha sido caracterizada por ser una fuente importante de compuestos fenólicos con propiedades nutricionales relevantes (Sanou et al., 2022). El contenido de compuestos fenólicos reportado en este estudio fue de 3627.51 mg EAG/ 100 g de cálices (Ver tabla 2). Hamrita et al. (2022) encontraron un contenido de fenoles totales de 2271 mg EAG/ 100 g de cálices con una extracción acuosa.

Otros estudios han reportado valores de 1044 y 1951 mg EAG/ 100 g de cálices, Morales-Luna et al. (2019) y Yang et al. (2012), respectivamente. El contenido de antocianinas (Tabla 2) que se muestra en esta investigación es de 1079.58 mg EC-3-G/100 g de cálices. Morales-Luna et al. (2019) encontraron valores más bajos de 445 mg EC-3-G/100 g de cálices provenientes de Oaxaca, México, en donde se utilizó una extracción acuosa para lo cual colocaron 20 g de muestra seca en 300 mL de agua hirviendo por 10 min. Por otra parte, Gartaula y Karki (2010) reportaron valores de 310.48 mg EC-3-G/100 g de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. cultivada en Jhapa, Nepal, con una extracción acuosa a diferentes temperaturas  $90 \pm 2$  °C (10, 20 y 30 min),  $70 \pm 2$  °C (20, 40 y 60min),  $50 \pm 2$  °C (20, 40 y 60 min) y  $32 \pm 2$  °C (30, 60 y 90 min).

Los compuestos bioactivos son metabolitos secundarios y su presencia está influenciada por factores ambientales (lluvia, temperatura, cultivo, temporada, etapa de maduración y cosecha) y genéticos (genotipo), también puede influir el estrés al que la planta se somete por las condiciones ambientales en las que vive. Estos factores pueden ocasionar distintas concentraciones al momento de la cuantificación (Ifie et al., 2018; Hamrita et al., 2022; Sanou et al., 2022).

Ramirez-Rodriguez et al. (2011) compararon la extracción acuosa de *Hibiscus sabdariffa* L. a 2 temperaturas distintas (25 y 90 °C) por 240 min y 16 min respectivamente, en donde los compuestos fenólicos totales se extrajeron mejor a 90

°C, sin embargo, para el contenido de antocianinas no se observó diferencia por las condiciones de extracción. Maciel et al. (2018) también realizaron la extracción de fenoles totales y antocianinas a diferentes temperaturas (40, 60 y 80 °C) y tiempos (10, 20 y 30 min) de extracción obteniendo como resultado valores de 1716 a 2000 mg EAG/ 100 g de cálices y 243 a 270 mg EC-3-G/100 g de cálices, respectivamente.

### 5.1.2. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante por ABTS• y DPPH• (Tabla 2) de la presente investigación fue de 24.25 y 16.35 mmol ET/100 g de cálices respectivamente. En cuanto a la actividad antioxidante por ABTS•, Fernández-Arroyo et al. (2011) mencionaron valores de 16 mmol ET/100 g de cálices, Salazar-González et al. (2012) valores de 6.27 mmol ET/100 g de cálices, mientras que Diessana et al. (2015) encontró valores más bajos de 0.30 mmol ET/100 g de cálices. Wong et al. (2006) reportaron 4.8 mmol ET/100 g de cálices para la actividad antioxidante por DPPH•.

La actividad antioxidante de *Hibiscus sabdariffa* L. está relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, entre los cuales se encuentran flavonoides, ácidos fenólicos (ácido gálico, quercetina, kaempferol, ácido cafeico, ácidos clorogénicos), antocianinas (delfinidina-3-sambubiosido, cianidina-3-sambubiosido, cianidina 3,5-diglucósido, delfinidina), ácidos orgánicos (ácido hidroxícítrico, ácido de hibisco) (Maciel et al., 2019; Sanou et al., 2022). Su actividad antioxidante está influenciada por su estructura, tipo, número y posición de los sustituyentes en el catión flavilio (Maciel et al., 2018). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos va a depender del número de grupos hidroxilo en la estructura del anillo y de su disposición (orto, meta y para); la posición orto de los grupos hidroxilo brinda una mayor estabilidad del radical neutralizado. Mientras mayor número de grupos hidroxilo se encuentren en la estructura, mejor es su actividad antioxidante. “La presencia del grupo 3-hidroxilo en el anillo heterocíclico también aumenta la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, ya que el grupo 3-OH favorece la reacción con los radicales libres” Olszowy (2019).

**Tabla 2.** Cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

Fenoles totales mg EAG/ 100 g de cálices	Antocianinas mg EC-3-G/100 g de cálices	ABTS• mmol ET/100 g de cálices	DPPH• mmol ET/100 g de cálices
3627.51 ± 8.08	1079.58 ± 3.54	24.25 ± 0.35	16.35 ± 0.08

EAG = equivalentes de ácido gálico, EC-3-G =equivalentes de cianidina-3-glucósido, mmol ET = milimoles equivalentes de trolox. Promedio de 3 repeticiones ± error estándar

## 5.2. Aislamiento del almidón de malanga

Para el proceso de aislamiento del almidón se empleó un método convencional, obteniéndose un rendimiento del 20% con relación a los kg iniciales de malanga. La malanga es un tubérculo rico en carbohidratos y contiene una cantidad notable de almidón el cual representa el 70 y 80% de la materia seca (Singla et al., 2020).

Falade et al. (2013) reportaron rendimientos entre el 10.03 y 18.61% en 3 cultivares de malanga (*Colocasia esculenta*) y 2 cultivares de tannia (*Xanthosoma sagittifolium*), siendo estos porcentajes más bajos que los obtenidos en el presente estudio. Singla et al. (2020) mencionan que utilizando un método de aislamiento convencional el porcentaje del rendimiento puede variar debido a diferentes factores; mientras que, utilizando un método de aislamiento enzimático el rendimiento puede incrementar de un 14 a 18%, en comparación con el convencional. Estos valores van a depender de la fuente botánica, la variedad, etapa de cosecha, factor genético, tamaño granular y método de aislamiento.

El método convencional para la obtención del almidón se basa en la insolubilidad de los gránulos de almidón en agua fría, por lo que se utilizan métodos de separación en medios acuosos, asimismo durante la molienda se libera la mayor parte del almidón (Sit, 2015; Brust et al., 2020).

Un estudio reportó el aislamiento del almidón de malanga mediante el método enzimático utilizando celulasa de *Aspergillus niger* y xilanasas de *Thermomyces lanuginosus*, se obtuvo un rendimiento del 17.22%, también se observaron modificaciones en las propiedades del almidón, como mayor poder de hinchamiento, menor solubilidad y viscosidad (Sit et al., 2015). Pese a obtener rendimientos mayores con el método enzimático, es importante considerar los cambios que sufre el almidón, podrían influenciar las propiedades importantes para ser usados como material pared, además que de que es un método que implica mayor costo.

### **5.3. Pureza del almidón**

El contenido de almidón total en la malanga del presente estudio fue de  $85.8 \pm 0.74$  %, Agama-Acevedo et al. (2010) reportaron valores similares de 85.5% en malanga cultivada en Atlixco, Puebla, México. También se han reportado valores más bajos (75.40%) en cultivares de Indonesia, 82.35% en cultivos de Malasia, y del 62.7 al 74.7% en variedades de malanga cultivadas en Tabasco, México (Aprianita et al., 2014; Sánchez-Chino et al., 2021; Syed et al., 2021). Por otra parte, una investigación evidenció el contenido de almidón de 315 genotipos de *Colocasia esculenta* con porcentajes que van del 56 al 85%, considerándose una rica fuente de almidón (Singla et al., 2020). Las diferencias entre los porcentajes podrían deberse a distintos factores, como la madurez del tubérculo y las raíces en el momento de cosecha, el origen botánico, los métodos analíticos para su determinación y su aislamiento (Aprianita et al., 2014).

### **5.4. Amilosa aparente**

En la Tabla 3 se presentan los resultados para el porcentaje de amilosa aparente encontrado en el almidón de malanga nativo (AN) y modificado por annealing a 67 y 70 °C. Los resultados muestran un menor porcentaje de amilosa en el AN (11.86%), a diferencia de estudios realizados por Wang et al. (2018) reportando un porcentaje de amilosa de 17.12%; Tattiyakul et al. (2006) encontraron porcentajes de amilosa entre 18.8% y 22.4% en 4 cultivares de diferentes regiones de Tailandia.

Lebot et al. (2011) realizaron una investigación en 315 genotipos de almidón de malanga en donde reportaron un porcentaje de amilosa entre el 10% al 49%. Los cambios en el porcentaje de amilosa en los almidones de malanga pueden deberse a los distintos genotipos, condiciones edafológicas y climáticas, distribución del tamaño de los gránulos, así como a los distintos procedimientos empleados para el aislamiento del almidón y métodos utilizados para determinar el contenido de amilosa (Singh et al., 2006; Sukhija et al., 2016).

El mayor contenido en el porcentaje de amilosa en almidones sometidos al tratamiento de annealing ha sido reportado por Deka y Sit (2016), en donde realizaron 5 combinaciones distintas para modificar el almidón de malanga con los tratamientos calor-humedad y microondas. Lee et al. (2022) mencionan un incremento en el contenido de amilosa después de la modificación por annealing e irradiación con rayos gamma en almidón de sagú. El incremento en el porcentaje de amilosa en almidones tratados por annealing podría deberse a que los gránulos de almidón al calentarse absorbieron energía, causando la ruptura de algunas cadenas de amilopectina dando lugar a cadenas lineales de amilosa (Deka y Sit, 2016).

**Tabla 3.** Porcentaje de amilosa en almidón nativo y almidón modificado de malanga por annealing

Muestra	Amilosa (%)
AN	11.86 ± 0.23 <sup>b</sup>
AM-67	13.20 ± 0.40 <sup>a</sup>
AM-70	13.06 ± 0.46 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN) y modificado mediante annealing a 67 y 70 °C (AM-67 y AM-70, respectivamente).

## **5.5. Caracterización morfológica**

### **5.5.1. Microscopía electrónica de barrido**

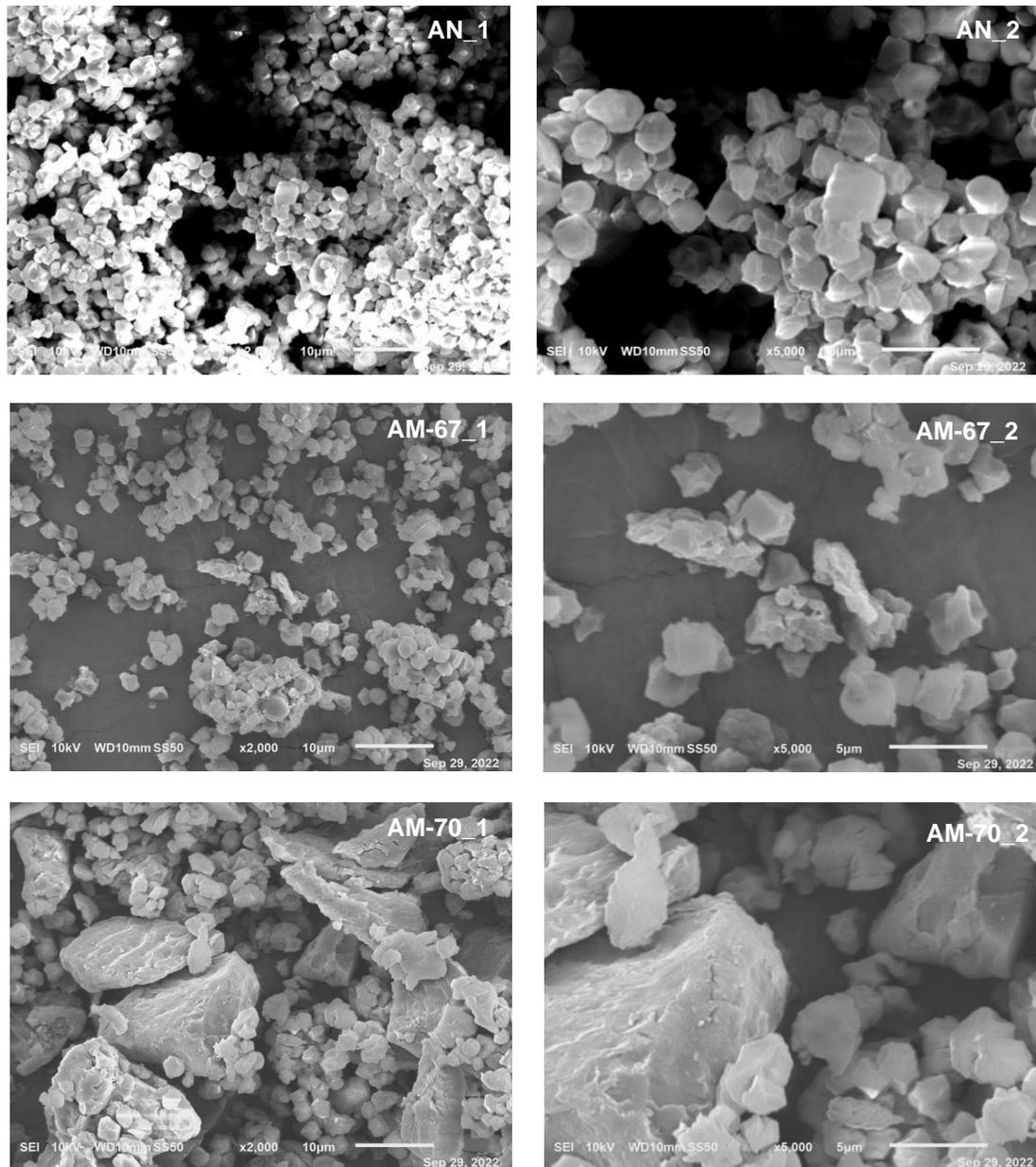
Las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido del almidón de malanga nativo y modificados por annealing se muestran en la Figura 7, en donde se muestra que los gránulos del AN, AM-67 y AM-70 presentan forma poligonal e irregular (Sit et al., 2014), estas mismas estructuras han sido reportadas en otros estudios (Jane et al., 1992; Tattiyakul et al., 2006; Agama-Acevedo et al., 2011; Karmakar et al., 2014).

Los gránulos del almidón de malanga tienen diferentes formas y tamaños en función a los tratamientos a los que se exponen (Singla et al., 2020). Después de las modificaciones, el AM-67 presenta ligeras modificaciones en su microestructura, se pueden observar gránulos en forma de agregados. Thomaz et al. (2020) reportaron una mayor agregación en gránulos de almidón de arroz modificado por el tratamiento calor-humedad. Respecto al AM-70 se observa la destrucción de algunos gránulos formando estructuras más compactas, irregulares y fracturadas. Estos cambios en este almidón podría ser resultado de la modificación, provocando la gelatinización de algunos gránulos (Wardana y Surono, 2019).

Setairo et al., (2020) analizaron las micrografías de almidones de malanga modificados por autoclave-enfriamiento, HMT y annealing, mostrando tamaños y formas diferentes en los gránulos, en donde su microestructura fue de polígono irregular. En los tratamientos HMT y annealing se encontraron gránulos de almidón agregados y fusionados, pero no se notó gelatinización del almidón, a diferencia del tratamiento por autoclave-enfriamiento, en el que, sí hubo un daño en la integridad física, transformándose en una estructura compacta y densa, posiblemente a causa de la gelatinización, provocando hinchazón en el gránulo y su ruptura, debido a la entrada del agua y al proceso de calentamiento a altas temperaturas.

Deka y Sit (2016) realizaron modificaciones en el almidón de malanga mediante tratamientos calor-humedad, microondas y autoclave, en donde se observó pérdida

de la integridad física de los gránulos, relacionándolo a una gelatinización parcial del almidón durante el proceso de modificación de los tratamientos.



**Figura 7.** Microscopía electrónica de barrido del almidón de malanga nativo (AN\_1 y AN\_2), almidón modificado por annealing a 67 °C (AM-67\_1 y AM-67\_2) y almidón modificado por annealing a 70 °C (AM-70\_1 y AM-70\_2) a 2000x y 5000x respectivamente.

## 5.6. Caracterización fisicoquímica

### 5.6.1. Contenido de humedad y actividad de agua

En la Tabla 4 se muestran los valores del porcentaje de humedad que presentaron el almidón nativo (AN); así como los almidones modificados AM-67 y AM-70. El porcentaje de humedad en los almidones se encontraron entre 8.18 a 8.56%. Wang et al. (2018) reportaron porcentajes de humedad entre el 10.37 y 11.38% en almidones aislados de frijoles, malanga, ñame chino, arrurruz, mandioca, raíz de helecho, semilla de loto y castaña de agua. En otro estudio se reportaron porcentajes de humedad en almidón aislado de malanga y maíz de 15.65 y 14.36%, respectivamente (Espinosa-Solis et al., 2021). En las investigaciones mencionadas anteriormente se observa que los porcentajes de humedad fueron más altos que los del presente estudio. El contenido de humedad puede variar según la fuente botánica, el tejido vegetal utilizado, el método de extracción y las condiciones de almacenamiento (Espinosa-Solis et al., 2021). De acuerdo con la Norma Mexicana (NMX-F-382-1986) el porcentaje máximo de humedad para almidón o fécula de maíz debe ser del 13%, por lo que los almidones evaluados en este estudio se encuentran dentro del porcentaje deseable. Amit et al. (2017) menciona que a un menor porcentaje de humedad se reduce la disponibilidad del agua para la actividad de los microorganismos, inhibiendo el deterioro de los alimentos.

Los valores de  $a_w$  para los almidones obtenidos se pueden ver en la Tabla 4, donde el almidón nativo presentó el mayor valor de  $a_w$ , seguido del almidón sometido a tratamiento hidrotérmico a 67 °C y del obtenido a 70 °C, los valores de  $a_w$  para los diferentes almidones estuvieron entre 0.36 a 0.41. Galicia-Domínguez et al. (2022) reportaron valores de  $a_w$  de 0.43 para el AN de malanga. Los alimentos a base de almidón se deben almacenar a un valor de  $a_w < 0.65$  (Abdullah et al., 2000). Un bajo contenido de humedad y  $a_w$  previene el desarrollo de microorganismos que degradan el almidón, permitiendo prolongar su vida útil y almacenamiento (Tesfaye et al., 2018).

Por otra parte, se puede notar que el porcentaje de humedad y la  $a_w$  en el AN fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en comparación con los modificados. Este mismo comportamiento fue reportado en almidón de kithul (*Caryota urens*) modificado por

annealing, en donde el AN presentó un porcentaje de 10.73% y el almidón modificado de 9.72% (Sudheesh et al., 2020), esto podría ser debido a los cambios en la estructura granular del almidón durante la modificación, provocando que el agua libre se perdiera más fácilmente (Liu et al., 2015).

**Tabla 4.** Valores de actividad de agua y porcentaje de humedad del almidón nativo y almidón modificado por annealing.

Muestra	Humedad (%)	Actividad de agua ( $a_w$ )
AN	8.56 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.002 <sup>a</sup>
AM-67	8.26 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.006 <sup>b</sup>
AM-70	8.22 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.004 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN) y modificado mediante annealing a 67 y 70 °C (AM-67 y AM-70, respectivamente).

### 5.6.2. Temperatura y entalpía de gelatinización

La temperatura de gelatinización, así como la entalpía de gelatinización del almidón nativo y modificado por annealing a 67 y 70 °C se muestran en la Tabla 5, en donde se puede observar un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en la temperatura de gelatinización en los AM con respecto al AN. También se observan diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en la entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ), siendo menor en los AM en comparación con el AN. Este comportamiento fue observado en una investigación con almidón de papa modificado por annealing con agua activada por plasma, en la cual la temperatura de gelatinización incrementó aproximadamente de 62 °C a 67 °C, atribuyéndose a una mejor interacción amilosa-amilosa o amilosa-amilopectina (reordenamiento de las cadenas), inhibiendo así el poder de hinchamiento de los gránulos, lo que retrasa la gelatinización, de igual manera hubo una disminución en la  $\Delta H$ , de 12.27 a 7.31 J/g, mencionando que probablemente puede ser por una disociación en las dobles hélices inestables en algunos gránulos

del almidón (Yan et al., 2022). Wang et al. (2017) investigaron las modificaciones del almidón de papa, ñame y trigo a temperaturas de 30, 40 y 50 °C, en donde se vio que la temperatura de gelatinización de los 3 almidones aumentó en el tratamiento a 50 °C, pero tuvo poco efecto sobre la entalpía. El aumento de la temperatura de gelatinización se relacionó a un mayor ordenamiento de las cadenas del almidón en las regiones amorfas.

**Tabla 5.** Propiedades térmicas por el método de calorimetría diferencial de barrido de los almidones nativo y modificados por annealing.

Muestra	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J/g)
AN	73.06 ± 0.16 <sup>b</sup>	77.76 ± 0.05 <sup>c</sup>	83.72 ± 0.61 <sup>c</sup>	11.47 ± 1.31 <sup>a</sup>
AM-67	78.76 ± 0.39 <sup>a</sup>	82.57 ± 0.14 <sup>b</sup>	86.85 ± 0.20 <sup>b</sup>	6.32 ± 0.92 <sup>b</sup>
AM-70	79.93 ± 0.70 <sup>a</sup>	83.86 ± 0.08 <sup>a</sup>	88.58 ± 0.38 <sup>a</sup>	6.28 ± 0.66 <sup>b</sup>

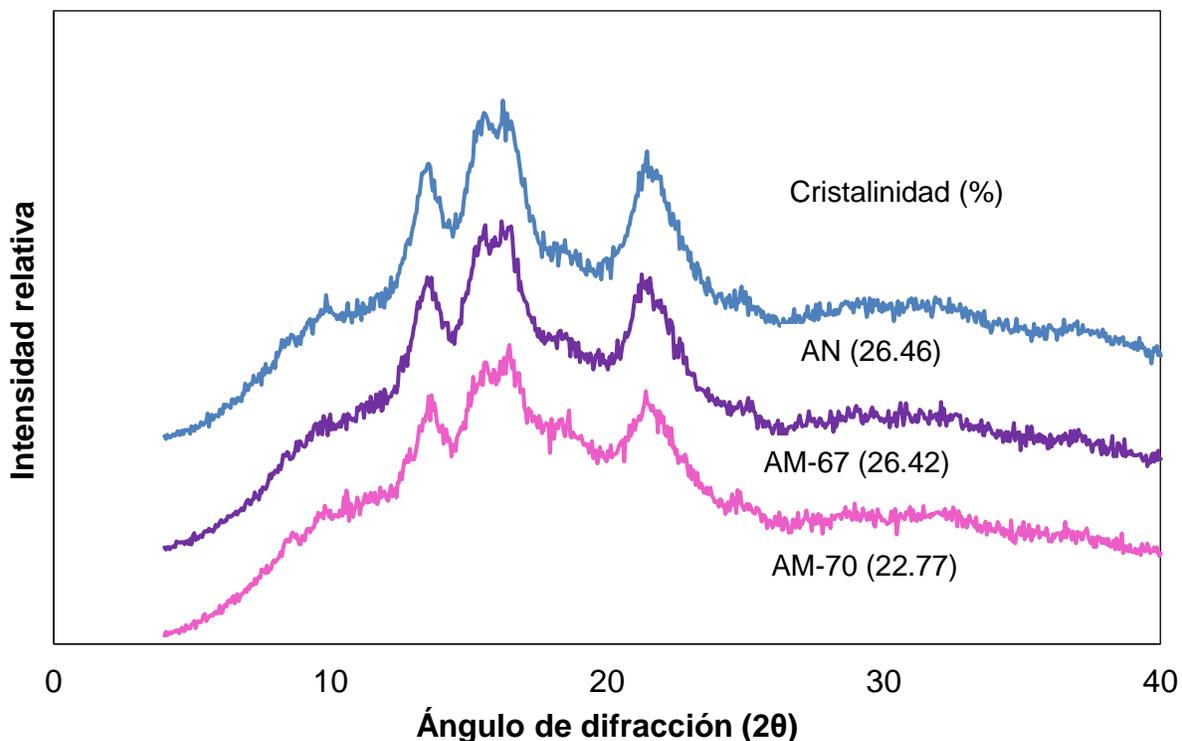
<sup>a-c</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN) y modificado mediante annealing a 67 y 70 °C (AM-67 y AM-70, respectivamente).

## 5.7. Caracterización estructural

### 5.7.1. Patrón de difracción de rayos X

En la Figura 8 se muestran los difractogramas de rayos X del AN y de los almidones modificados, en donde se puede observar que los 3 almidones presentaron un patrón polimorfo tipo A con picos característicos a  $2\theta = 15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$  y  $23^\circ$  (Torres et al., 2010). Los tubérculos y las raíces presentan un patrón de difracción de tipo B o C sin embargo existen excepciones como en el caso de la malanga. Es importante mencionar que los almidones con patrones de difracción tipo A y probablemente un patrón tipo C contienen un alto contenido de amilopectina y bajo contenido de amilosa, mientras que los almidones con un patrón de difracción tipo B son más altos en amilosa (Cornejo-Ramírez et al., 2018; Riley, Wheatley, y Asemota, 2006).

El patrón de difracción no sufrió cambios en el almidón nativo y en los almidones modificados, aunque sí se observó una ligera disminución en la intensidad de los picos y en el porcentaje de cristalinidad del AM-70. Días et al. (2010) reportaron este mismo comportamiento en almidón de arroz modificado por annealing a tres temperaturas distintas 45, 50 y 55 °C. En otro estudio en harina de mijo en donde se compararon distintas temperaturas de modificación (30, 40, 50 y 60 °C) también hubo una disminución en el porcentaje de cristalinidad de 28.87% en el almidón nativo, y hasta un 20.02% en el almidón modificado (Wang et al., 2023). Estos resultados sugieren una disminución en las áreas cristalinas relacionándose con la gelatinización de algunos gránulos de almidón durante la modificación por annealing (da Rosa Zavareze y Dias, 2011; Días, da Rosa Zavareze, Spier, de Castro, y Gutkoski, 2010).

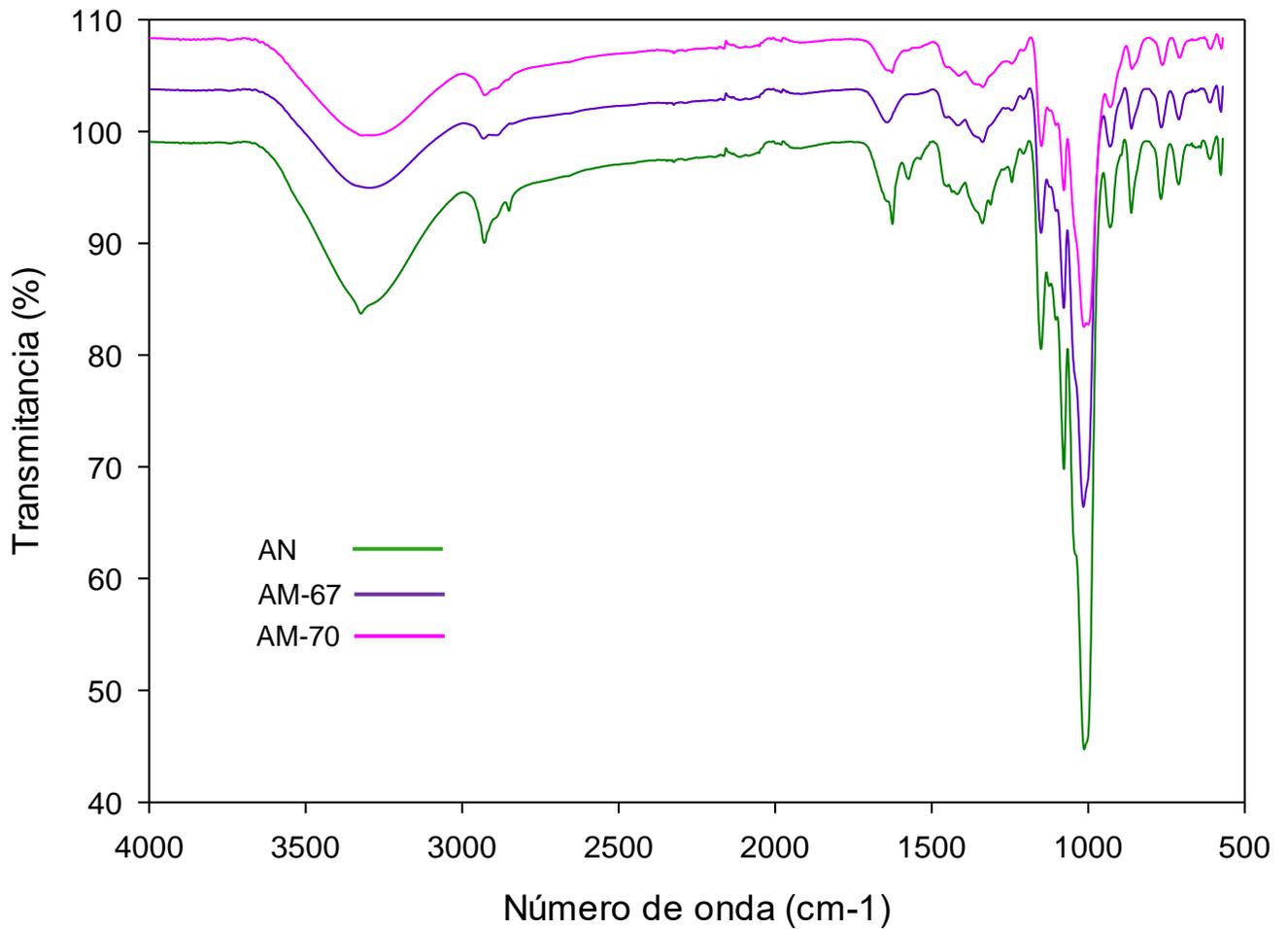


**Figura 8.** Patrón de difracción de rayos-X y porcentaje de cristalinidad del almidón nativo (AN) y modificados mediante annealing a 67 y 70 °C (AM-67 y AM-70, respectivamente).

### 5.7.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Se puede visualizar el espectro FTIR del almidón nativo de malanga, del AM-67 y del AM-70 (Figura 9). Los espectros infrarrojo de las 3 muestras exhibieron picos característicos de la naturaleza estructural de los carbohidratos. La banda en el área de 3000-3600 con un pico en el número de onda  $3322\text{ cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento de los grupos hidroxilo. El pico de  $2928\text{ cm}^{-1}$  se asemeja al estiramiento del enlace C-H. El número de onda de  $1627\text{ cm}^{-1}$  se debe a la vibración de los grupos O-H del agua en la región amorfa de los almidones (Jiang et al., 2011; Wang et al., 2018; Rincón-Aguirre et al., 2018). Las bandas de 1430 y 1338 corresponden a los enlaces C-H y  $\text{CH}_2$ , respectivamente (Wang et al., 2018). El estiramiento de los enlaces C-C y C-O podría asignarse al pico  $1158\text{ cm}^{-1}$ . Se observan señales en los números de onda de  $1075\text{ cm}^{-1}$  y  $1011\text{ cm}^{-1}$  atribuidas a los estiramientos de los enlaces C-O asociados a la glucosa (Andrade et al., 2017). Los picos de 800 a  $928\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a la vibración de los enlaces glucosídicos (Rincón-Aguirre et al., 2018; Pachau et al., 2018).

De acuerdo con Van Soest et al. (1995) y Aboubakar et al. (2008) y los números de onda encontrados entre  $1047\text{ cm}^{-1}$  y  $1022\text{ cm}^{-1}$  describen las propiedades cristalinas y amorfas del almidón respectivamente, y sus proporciones indican el grado de orden en él. También se han considerado las bandas de  $1080\text{ cm}^{-1}$  y  $1020\text{ cm}^{-1}$  como señalamiento del orden (cristalinidad) y amorfismo, respectivamente (Van Soest et al., 1995). En este estudio las bandas tienen señales en los números de onda de  $1075\text{ cm}^{-1}$  y  $1017\text{ cm}^{-1}$ , la intensidad de la señal en estas bandas disminuye en los almidones modificados con respecto al AN. Este comportamiento fue reportado para almidón de papa y chícharo modificado por annealing, mencionando que esta disminución en las señales pudo haberse debido a un daño en la estructura interna del gránulo de almidón formando algunos poros, rupturas y grietas (Yan et al., 2022).



**Figura 9.** Espectro FTIR del almidón de malanga nativo (AN), modificado a 67 °C (AM-67) y modificado a 70 °C (AM-70).

### 5.8. Eficiencia de encapsulación

En la Tabla 6 se presenta el porcentaje de retención de antocianinas totales y en la superficie de las microcápsulas del AN, AM-67 y AM-70. En donde se puede ver que las microcápsulas preparadas con AN obtuvieron una menor eficiencia de encapsulación (EE) en comparación con las microcápsulas de los almidones modificados.

Ahmad et al. (2018) encapsularon antocianinas de azafrán utilizando como material pared  $\beta$ -glucano y  $\beta$ -ciclodextrina obteniendo una EE del 45% y 63.25% respectivamente. Idham et al. (2011) reportaron una EE de 99.87% en microcápsulas de *Hibiscus sabdariffa* L. utilizando una combinación de 2 materiales pared, que fueron goma arábica y maltodextrina (60:40). En otra investigación utilizaron una combinación de proteína de soya y almidón de semilla de yaca (1:5) con 0.3% de emulsificante NBRE-15 para encapsular antocianinas de zanahoria negra dando como resultado una EE de 89.71%. (Patel et al., 2020). Para la encapsulación de antocianinas de arándano con una combinación de maltodextrina (9%) y almidón de maíz (9%) se consiguió una EE de 77.05% (da Rosa et al., 2019), mientras que Díaz et al. (2015) encontraron valores más bajos (66.45%) utilizando maltodextrina como agente encapsulante.

Hasta el momento no se ha reportado ningún estudio sobre la EE en almidones modificados por annealing. Sin embargo, Hecht y King (2000) mencionan que durante el proceso de secado por aspersion puede haber perdida de compuestos después de la formación de las gotitas, en el momento en que hay una pérdida de agua rápida en ella, y su superficie no ha formado una membrana estable. Por lo que los compuestos se esparcen con el agua hacia la superficie de la gota, especialmente aquellos que son más inestables, perdiéndose en el aire de secado. De acuerdo con Jafari et al. (2008) la humedad, el flujo de aire y el tamaño de las partículas de polvo pueden alterar la EE.

Con respecto a las antocianinas cuantificadas en la superficie de las microcápsulas, el AN tuvo los valores más bajos en comparación con los almidones modificados. Valores similares fueron encontrados en la encapsulación de aceite de aguacate (29.63%), utilizando como material pared almidón de malanga nativo. Por su parte Hoyos-Leyva et al. (2018; 2019) encapsularon vitamina C y aceite de almendras con almidón de malanga obteniendo un porcentaje en la superficie de la cápsula de 20.9 y 37.5% respectivamente.

Un inconveniente en el almidón de malanga es que los agregados esféricos formados durante el secado por aspersion presentan poros en su estructura, lo que podría

contribuir a una liberación más rápida y menor capacidad de retención del material activo (Hoyos-Leyva et al., 2018).

La eficiencia de encapsulación del material del núcleo es uno de los parámetros más importantes, un tratamiento de encapsulación eficiente se basa en lograr una alta retención del ingrediente activo dentro del material pared y un contenido mínimo en la superficie de la cápsula (Díaz et al., 2015; Ahmad et al., 2018).

**Tabla 6.** Porcentaje de retención de antocianinas en las microcápsulas del almidón nativo, almidones modificados a 67 y 70 °C.

Retención de antocianinas (%)		
Muestra	Total	Superficie
AN	38.05 ± 0.16 <sup>c</sup>	25.81 ± 0.65 <sup>ab</sup>
AM-67	44.65 ± 0.34 <sup>b</sup>	20.73 ± 1.65 <sup>c</sup>
AM-70	54.54 ± 0.59 <sup>a</sup>	23.40 ± 1.2 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN) y modificado mediante annealing a 67 y 70 °C (AM-67 y AM-70, respectivamente). Promedio de 3 repeticiones ± error estándar

## 5.9. Estabilidad de las microcápsulas

### 5.9.1. Almacenamiento

#### 5.9.1.1. Cuantificación de compuestos bioactivos

Los resultados del contenido de fenoles totales se pueden visualizar en la Figura 10, en donde se distingue una disminución en los valores a través de las semanas de almacenamiento, tanto en el AN como en los almidones modificados. Los almidones modificados también muestran una mayor pérdida de compuestos bioactivos en las primeras semanas, mientras que el AN muestra una degradación paulatina de la semana 0 a la semana 8.

La disminución de compuestos fenólicos ha sido reportada por Paini et al. (2015), quienes encapsularon orujo de oliva utilizando maltodextrina como agente encapsulante, el polvo fue almacenado por 70 días obteniendo una reducción del 21% con respecto al día 0. En la presente investigación hubo una pérdida del 26% para el AN, un 44.2% en el AM-67 y un 37.34% en el AM-70 a los 56 días de almacenamiento. Por otro lado, Cam et al. (2019) obtuvieron una pérdida del 35% a los 90 días de almacenamiento (4 °C) en la encapsulación de compuestos fenólicos de cáscara de granada empleando maltodextrina como material pared, mostrando una disminución significativa en los primeros 15 días de almacenamiento. Este comportamiento puede ser por la susceptibilidad de los compuestos a la oxidación, ya que en la superficie de la cápsula se encuentran fenoles que no fueron recubiertos por lo tanto no cuentan con una barrera protectora variando su estabilidad durante el almacenamiento.

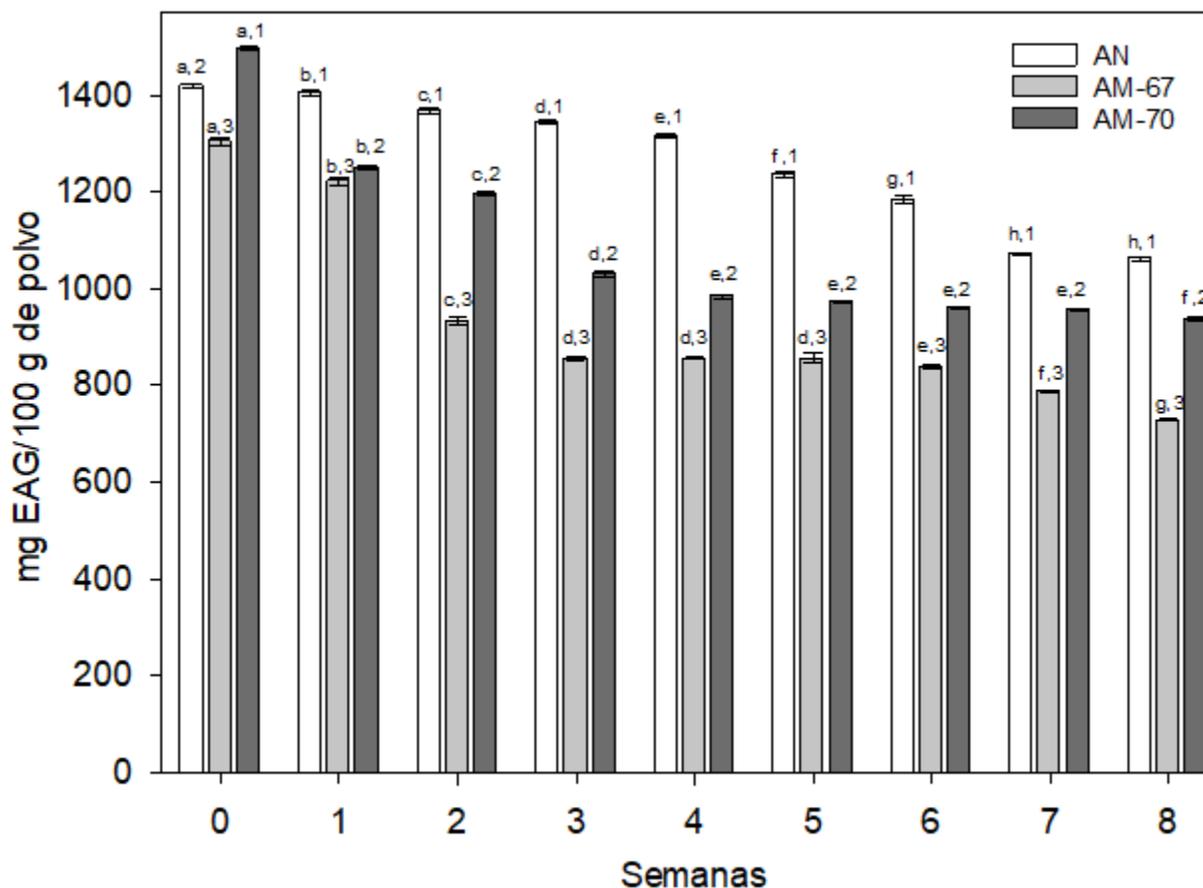
En cuanto a la cuantificación de antocianinas (Figura 11), se percibe una disminución en su contenido en el AN, AM-67 y AM-70 no obstante, esa disminución fue más notoria entre la semana 0 y la semana 2.

En una investigación encapsularon antocianinas de zanahoria negra ocupando maltodextrina como agente de recubrimiento, el polvo fue almacenado a 4 °C por 8 semanas con una degradación del 11% (Erus y Yurdagel, 2007). Por su parte Jiménez-Aguilar et al. (2011) encapsularon antocianinas de arándano con goma de mezquite, obteniendo una pérdida del 7% durante 1 mes de almacenamiento a 4 °C. Las microcápsulas de AN, AM-67 y AM-70 tuvieron una disminución en el contenido de antocianinas del 20.07%, 37%, 25.04% en 8 semanas.

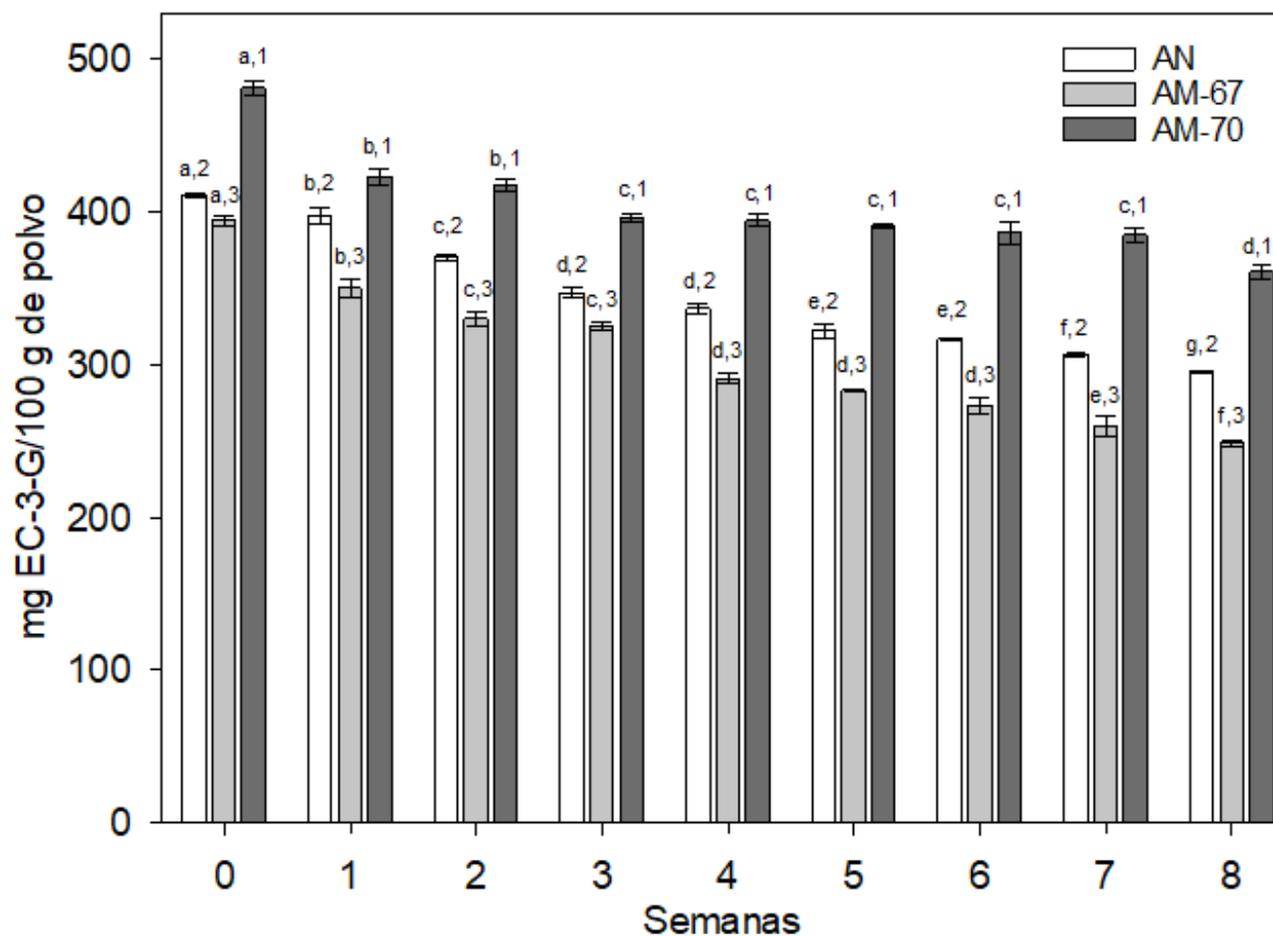
La reacción de degradación puede corresponder a los compuestos superficiales (no encapsulados) o internos que entran en contacto con el oxígeno presente en los poros de las cápsulas, lo que conduce a la oxidación, incluso puede ocurrir una difusión del material activo por defectos y porosidades en la estructura (Tonon et al., 2010).

También se puede observar que las microcápsulas del AM-70, tuvieron un mayor contenido de antocianinas durante las semanas de almacenamiento. Cabe

mencionar que no existen estudios sobre la encapsulación de ningún compuesto en donde utilicen el almidón modificado por annealing como material pared. Sin embargo, los materiales del núcleo son capaces de interactuar con los almidones mediante sorción en los espacios intergranulares, provocando un autoensamblaje de microcápsulas entre los gránulos de almidón y las antocianinas cuando son mezclados con suficiente agua y se deja que se aglomeren (Liu, Y, 2014).



**Figura 10.** Cuantificación de fenoles totales (mg EAG/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento. Medias de 3 réplicas  $\pm$  error estándar. Letras indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la misma muestra por cada semana y números indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN), almidón modificado a 67 °C (AM-67) y almidón modificado a 70 °C (AM-70) en cada semana de almacenamiento.

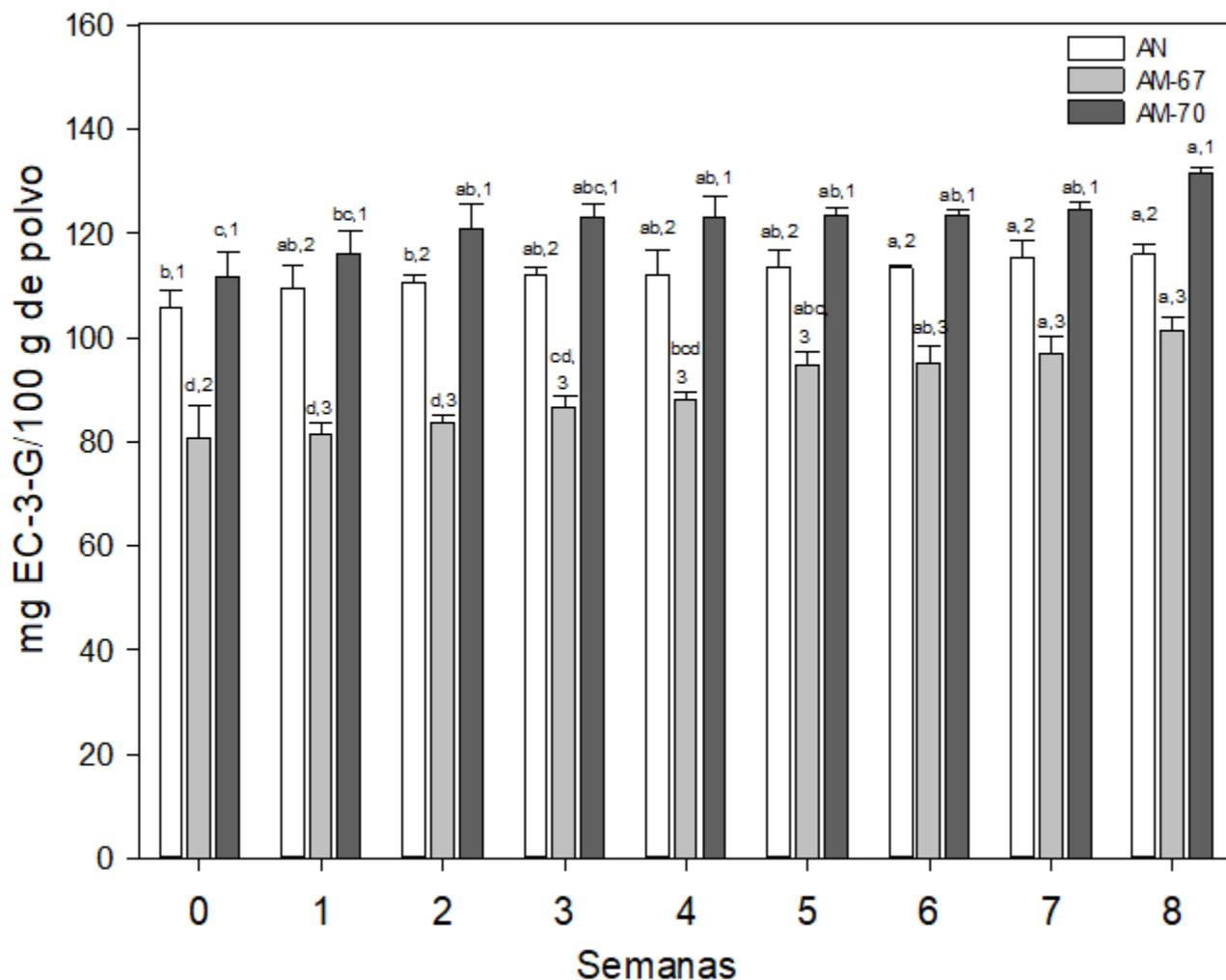


**Figura 11.** Cuantificación de antocianinas (mg EC-3G/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento. Medias de 3 réplicas  $\pm$  error estándar. Letras indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la misma muestra por cada semana y números indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN), almidón modificado a 67 °C (AM-67) y almidón modificado a 70 °C (AM-70) en cada semana de almacenamiento.

### **5.9.1.2. Antocianinas en la superficie de las microcápsulas**

En la Figura 12 se muestra la cuantificación de antocianinas en la superficie de las microcápsulas. La superficie de la cápsula hace referencia a los compuestos ubicados fuera de la capa protectora y también a los compuestos que tienen más proximidad a la misma, lo que sugiere su disponibilidad para una liberación más rápida.

Se puede observar que desde la semana 0 hasta la semana 8, incrementó la cantidad de antocianinas en la superficie de las microcápsulas del AN, AM-67 y AM-70. Sin embargo, las microcápsulas del AN tuvieron un incremento significativamente mayor, en comparación con los almidones modificados. Este aumento en la concentración de antocianinas en la superficie sugiere que los compuestos que estaban previamente encapsulados en el interior de la cápsula y migraron gradualmente hacia la superficie, volviéndolos más susceptibles a la degradación durante el almacenamiento.



**Figura 12.** Cuantificación de antocianinas monoméricas (mg EC-3G/100 g de polvo) en la superficie de las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento. Medias de 3 réplicas  $\pm$  error estándar. Letras indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la misma muestra por cada semana y números indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN), almidón modificado a 67 °C (AM-67) y almidón modificado a 70 °C (AM-70) en cada semana de almacenamiento.

### 5.9.1.3. Actividad antioxidante

En la Figura 13 y 14 se presenta la actividad antioxidante por ABTS• y DPPH• respectivamente de las microcápsulas del AN y los almidones modificados. En donde se observa una pérdida significativa en los valores de la actividad antioxidante por ABTS• de la semana 0 a la semana 2 (AN y AM-70), así como de la semana 0 a la semana 3 (AM-67); después de esas semanas, aunque hubo una disminución de la actividad antioxidante, esta no fue significativa.

La comparación de los encapsulados en cada semana de almacenamiento del AN, AM-67 y AM-70 (representada en números), muestra que en la semana 0 las microcápsulas del AM-70 tuvieron la mayor actividad antioxidante. En la semana 1 no hubo diferencia significativa entre las microcápsulas del AN y AM-70. Mientras que en las semanas restantes las microcápsulas del AN presentaron mayor actividad antioxidante ( $p < 0.05$ ) que las del AM-67 y AM-70.

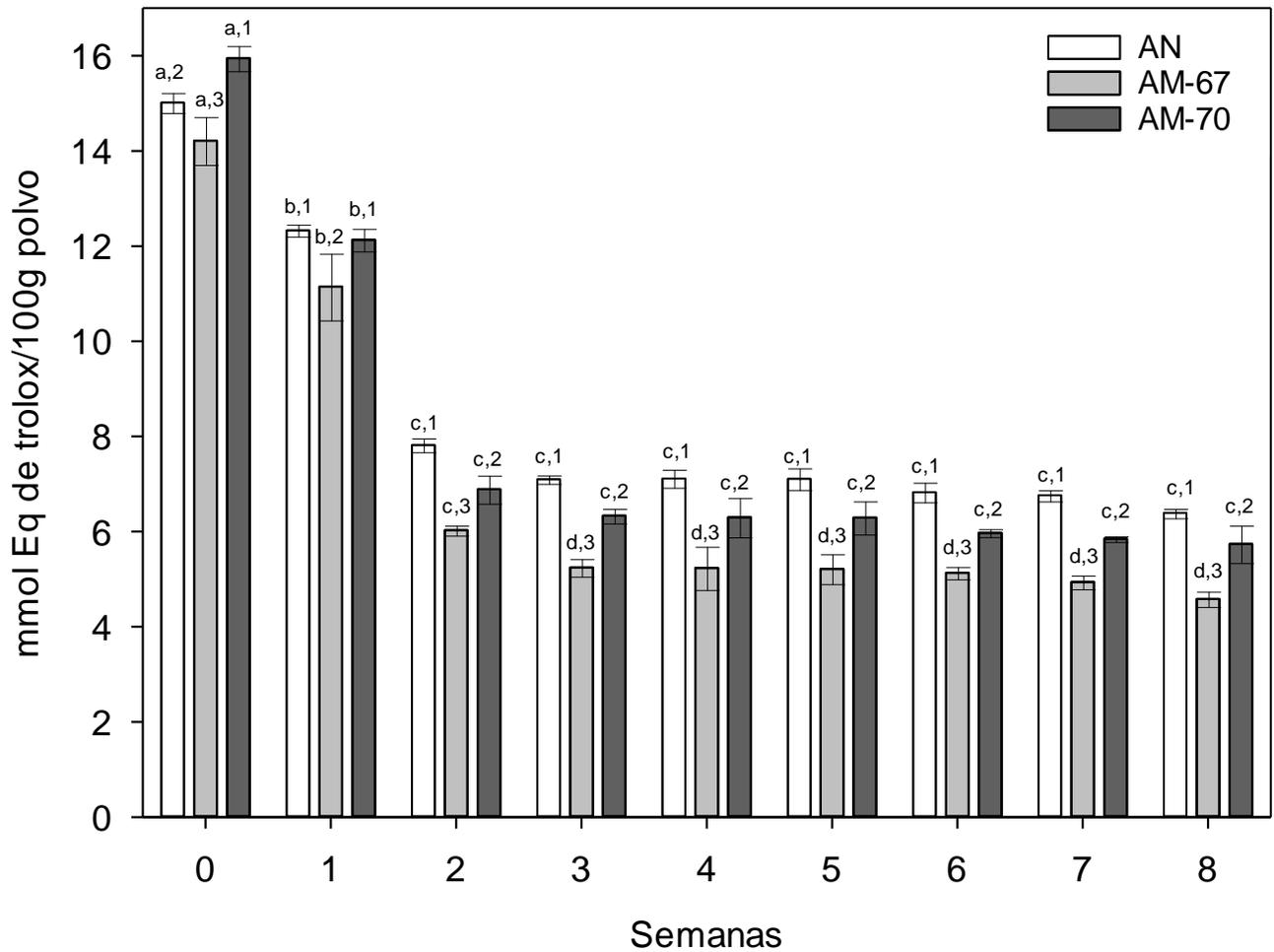
Respecto a la actividad antioxidante por DPPH•, se observa una disminución de los valores en las microcápsulas del AN y modificados durante las semanas de almacenamiento, sin embargo, las microcápsulas del AM-67 y AM-70 tuvieron una mejor estabilidad en comparación con las microcápsulas del AN.

La comparación de los encapsulados del AN, AM-67 y AM-70 en cada semana de almacenamiento muestra que, en la semana 0, las microcápsulas de AM-70 exhibieron una mayor actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH•, a diferencia de los resultados obtenidos para AN y AM-67. De la primera a la quinta semana el microencapsulado de AN presentó los valores más altos de actividad antioxidante. A partir de la sexta semana en adelante, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las microcápsulas de AN y AM-70.

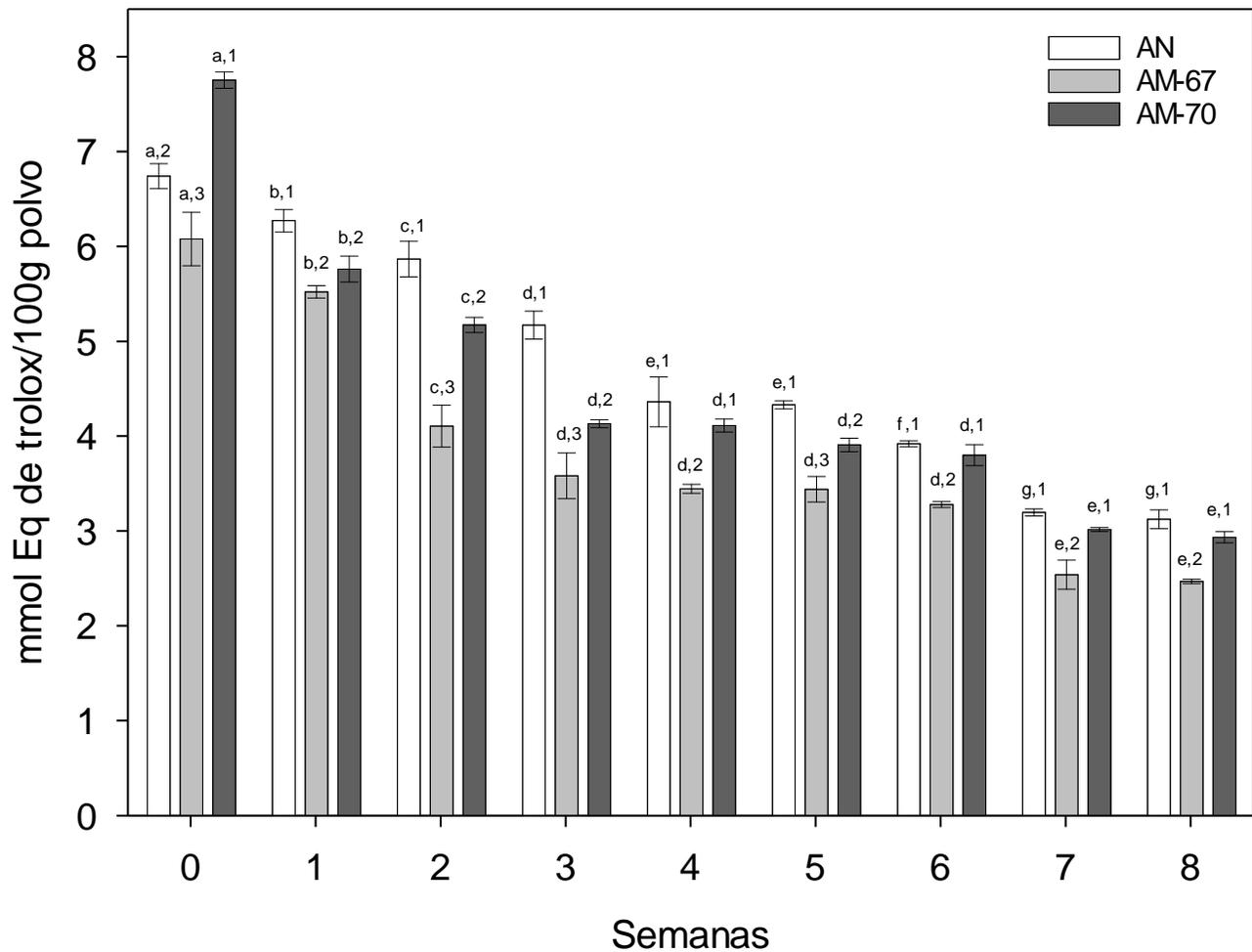
Aunque no existen estudios que reporten el comportamiento del microencapsulado utilizando el almidón modificado por annealing como material pared, Rigon y Zapata-Noreña (2016) mencionan que la temperatura utilizada durante el proceso de secado por aspersion puede afectar la estructura de los compuestos fenólicos, ya que estos son termolábiles y se degradan con mayor facilidad. De igual manera se sabe que

ambos métodos tienen el principio de estabilizar los radicales libres mediante la donación de átomos de hidrógeno. Las diferencias porcentuales en las pruebas DPPH• y ABTS• pueden deberse al hecho de que diferentes compuestos en los polvos pueden reaccionar y eliminar diferentes radicales libres. Como se puede ver en las Figuras 10 y 11 hubo un descenso significativo de compuestos bioactivos entre la semana 0, 2 y 3 en los encapsulados del AM-67 y AM-70 y un comportamiento similar se observó para la prueba de DPPH• y ABTS•.

La inhibición del radical DPPH• está relacionada con la naturaleza de los compuestos fenólicos, contribuyendo a la capacidad de donación de hidrógeno/transferencia de electrones. La presencia de flavonoides suele tener una mayor actividad antioxidante debido a la presencia de un doble enlace en el anillo C. En general, la actividad de eliminación de radicales libres de los flavonoides depende de su estructura y la disposición de los grupos hidroxilo. Los compuestos que presentan una estructura orto 3, 4,-dihidroxi en el anillo B (p. ej., quercetina), grupos hidroxilo en posición meta, p. ej., 5, 7, dihidroxi en el anillo A (p. ej., kaemferol), así como los que presentan un doble enlace entre el grupo hidroxilo C2 y el C3 en el anillo C, presentan la mayor actividad de eliminación de radicales (Loganayaki et al., 2013).



**Figura 13.** Actividad antioxidante por inhibición del radical ABTS• (mmol Eq Trolox/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento. Medias de 3 réplicas  $\pm$  error estándar. Letras indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la misma muestra por cada semana y números indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN), almidón modificado a 67 °C (AM-67) y almidón modificado a 70 °C (AM-70) en cada semana de almacenamiento.

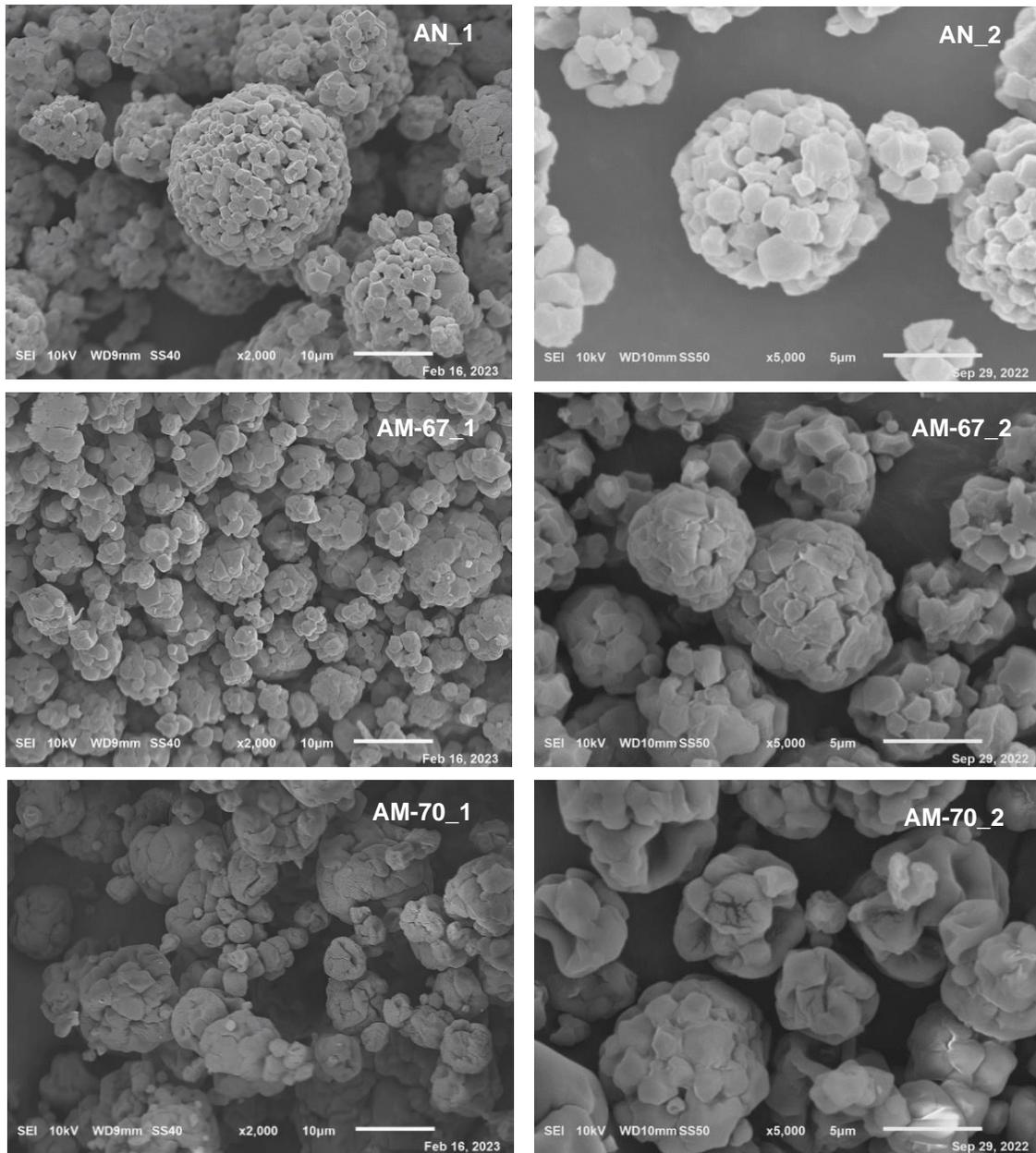


**Figura 14.** Actividad antioxidante por inhibición del radical DPPH• (mmol Eq trolox/100 g de polvo) en las microcápsulas de almidón de malanga a diferentes tiempos de almacenamiento. Medias de 3 réplicas  $\pm$  error estándar. Letras indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para la misma muestra por cada semana y números indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el almidón nativo (AN), almidón modificado a 67 °C (AM-67) y almidón modificado a 70 °C (AM-70) en cada semana de almacenamiento.

## **5.10. Caracterización morfológica**

### **5.10.1. Microscopía electrónica de barrido**

La morfología de las microcápsulas del AN, AM-67 y AM-70 se muestra en la Figura 15, donde se puede observar la formación de estructuras esféricas. Estas estructuras también fueron identificadas en el almidón de malanga por Hoyos-Leyva et al. (2019), las cuales se formaron por la aglomeración de los gránulos de almidón durante el proceso de secado por aspersion. Cabe mencionar que, aunque se hayan formado estas estructuras, hubo algunos gránulos que no se unieron para formar una esfera quedando libres (AM-67 y el AM-70). También se puede ver que las esferas presentan algunos poros en la superficie tanto en el AN como en los almidones modificados, lo cual tiene que ver con la forma poligonal e irregular de los gránulos de almidón de malanga (Sit et al., 2014). Por otra parte, aunque en el AM-70 se observó la formación de agregados esféricos, algunos de ellos exhibieron huecos o concavidades de distintos tamaños y en diferentes zonas de la esfera que causaron deformaciones en su estructura o una superficie rugosa. No se han encontrado estudios sobre encapsulados con la modificación por annealing, sin embargo, esto está ligado con la micrografía del AM-70 (Figura 7), ya que una proporción de los gránulos del almidón se gelatinizaron perdiendo su forma de polígono y por consiguiente las esferas no se formaron de manera semejante a las del AN y el AM-67.



**Figura 15.** Micrografías electrónicas de barrido de las microcápsulas de almidón de malanga nativo (AN\_1 y AN\_2) y de las microcápsulas de los almidones modificados por annealing a 67 °C (AM-67\_1 y AM-67\_2) y a 70 °C (AM-70\_1 y AM-70\_2) a 2000x y 5000x respectivamente.

## **5.11. Caracterización fisicoquímica**

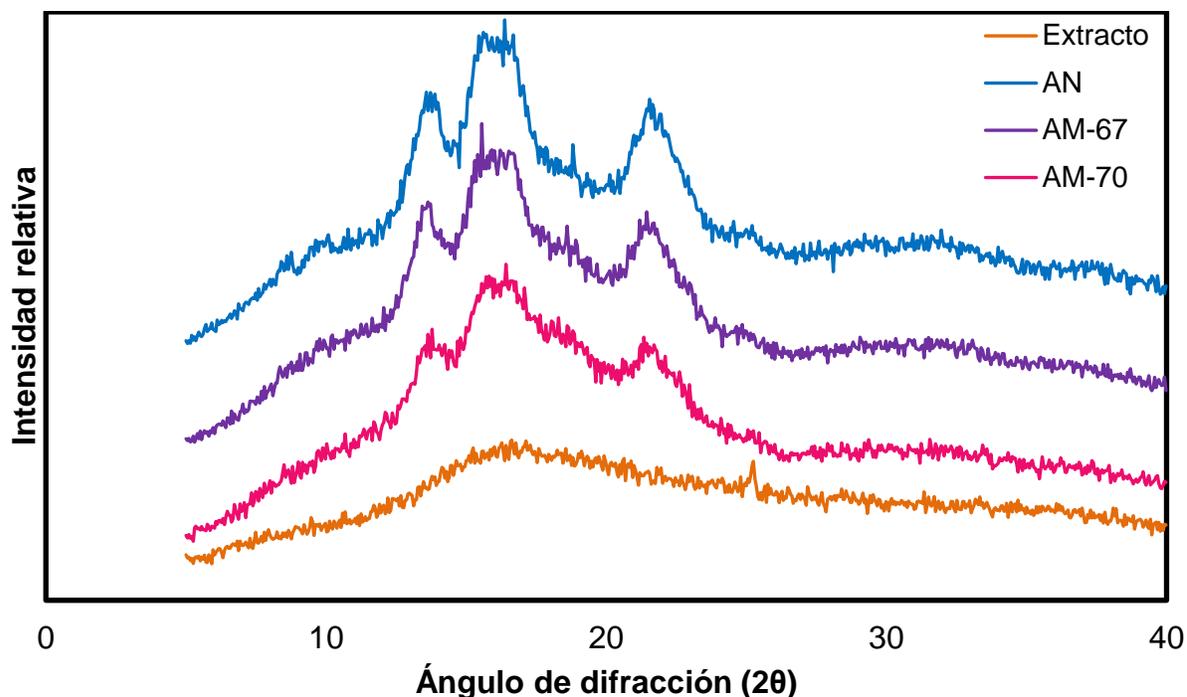
### **5.11.1. Actividad de agua**

La actividad de agua de las microcápsulas durante el almacenamiento permaneció en un intervalo de  $0.150 \pm 0.01$  a  $0.257 \pm 0.01$ . Arepally et al. (2020) encapsularon *L. acidophilus* utilizando como material pared maltodextrina y goma arábica, el polvo se almacenó a 4 y 25 °C por 12 semanas, encontrando un valor promedio de  $a_w$  0.42, de igual manera mencionan que los alimentos en polvo con una  $a_w < 0.6$  se consideran seguros y que la  $a_w$  disminuye con un incremento en la temperatura del aire de entrada, lo que provoca una transferencia de calor más rápida para la eliminación del agua. Los productos que se obtienen del proceso de secado por aspersion tienen una baja actividad de agua y son muy estables frente a factores físicos y microbiológicos (Koh et al., 2022).

## **5.12. Caracterización estructural**

### **5.12.1. Patrón de difracción de rayos X**

El patrón de difracción de rayos X de las microcápsulas del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L., AN y almidones modificados se muestran en la Figura 16. Se puede ver que hay una disminución en la intensidad de los picos en comparación con el difractograma de la Figura 8. Además, se distingue un pico característico en el extracto, que no se observó en las microcápsulas. Un comportamiento similar fue reportado por Navidad-Murrieta et al. (2020) quienes encapsularon extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. mediante la técnica de secado por aspersion, empleando como material pared maltodextrina y goma arábica, en donde se siguen presentando los picos característicos de los agentes encapsulantes, pero una disminución en la intensidad. Lo que sugiere interacciones moleculares entre el material pared y los compuestos fenólicos.



**Figura 16.** Patrón de difracción de rayos-X de los encapsulados del almidón de malanga AN (almidón nativo) AM-67 (almidón modificado a 67 °C) y AM-70 (almidón modificado a 70 °C).

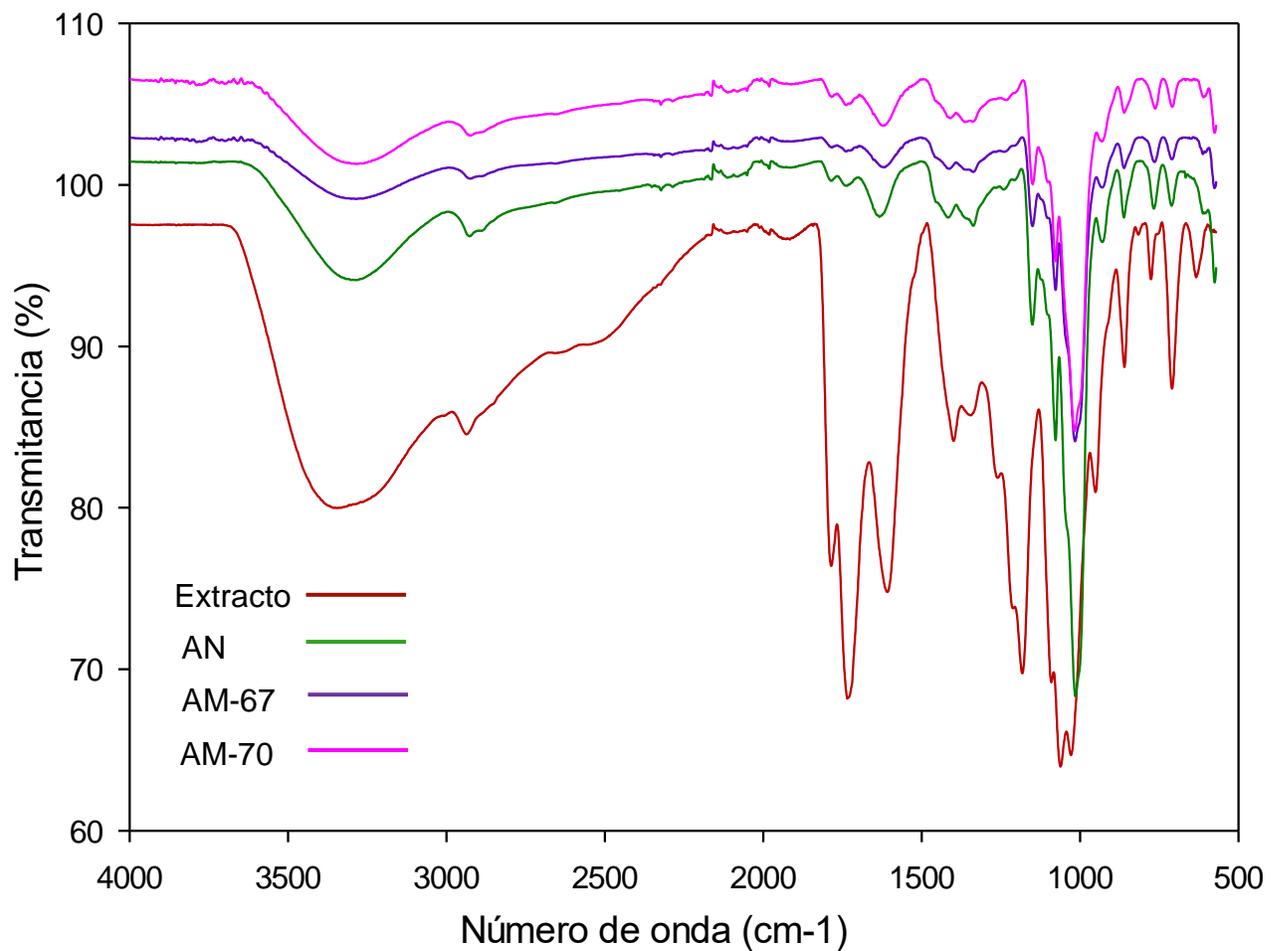
### 5.12.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

En la Figura 17 se puede ver el espectro FTIR del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. y de los microencapsulados. La banda ancha de 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$  se asocia con los grupos OH del azúcar y el fenol (Tavakolifar et al., 2016). El número de onda alrededor de 2933  $\text{cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento de  $\text{CH}_2$  (Choong et al., 2019). La señal de 1786  $\text{cm}^{-1}$  se puede deber a un grupo carboxilo ( $\text{C}=\text{O}$ ) de los compuestos fenólicos (Navidad-Murrieta et al., 2023). En el número de onda de 1610  $\text{cm}^{-1}$  indica la vibración en los enlaces en el grupo orto- $\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$  (Brangule et al., 2020). La región de 1350 a 1310 pertenece a la vibración de los enlaces C-OH, C-O, C-H, de los ácidos carboxílicos (Ali y Latip, 2020).

El pico observado en el número de onda 1263  $\text{cm}^{-1}$ , pertenece al estiramiento de los grupos ácidos O-C (Johson et al., 2017). En el pico de 1183  $\text{cm}^{-1}$  se localiza el estiramiento de C-O-C. Los picos que se encuentran de 1100 a 1071  $\text{cm}^{-1}$  indican la

presencia de antocianinas (cianidina-3-O-sambubiósido y delphinidina-3-O-sambubiósido) (Paraíso et al., 2020). A el número de onda de  $1031\text{ cm}^{-1}$  se encuentra el estiramiento de C-O (Singha et al., 2009).

Ali y Latip (2020) mencionan que los picos característicos de las antocianinas se pueden dividir en 3 secciones  $1900\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ ,  $1549\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  y  $999\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ , en donde se encuentran grupos C=O, C-OH, C-O, C-H, C-O-C. Por lo que en el extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. encapsulado se puede visualizar que estos picos tuvieron ligeros cambios en el número de onda y también una disminución en su intensidad. Este mismo comportamiento fue observado en ácido L-ascórbico encapsulado con almidón nativo de malanga mediante secado por aspersión (Hoyos-Leyva et al., 2018) y ácido L-ascórbico encapsulado con hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina utilizando un sistema de liofilizado (Garnero y Longhi, 2007). Atribuyéndose a la formación de enlaces de hidrógeno entre los compuestos bioactivos y el material pared, dado que el almidón está compuesto por cadenas poliméricas (amilosa y amilopectina), que tienen la capacidad de formar enlaces de hidrógeno con los compuestos hidrofílicos. Los grupos hidroxilo (OH) presentes en la unidad monomérica de D-glucosa son lo que permiten esta unión.



**Figura 17.** Espectro FTIR del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. y de los encapsulados del almidón de malanga nativo (AN), modificado a 67 °C (AM-67) y modificado a 70 °C (AM-70).

## 6. CONCLUSIONES

- La modificación térmica del almidón de malanga tuvo un efecto positivo en la estabilidad de las microcápsulas, en donde los compuestos bioactivos fueron más estables de la semana 3 a la semana 8, en comparación con las microcápsulas del almidón nativo.
- La modificación por annealing cambia la microestructura de los gránulos del almidón, observándose que a mayor temperatura de modificación algunos gránulos gelatinizaron.
- La modificación por annealing aplicada en el almidón nativo condujo a un incremento en la temperatura de gelatinización de los almidones modificados, sin embargo, se obtuvo una disminución en los valores de la entalpía de gelatinización. Estos resultados sugieren que la modificación si tuvo un impacto significativo en los gránulos del almidón de malanga.
- El material pared seleccionado, almidón nativo, AM-67 y AM-70 de malanga demostraron ser efectivos para encapsular el extracto de manera eficiente y se pudo observar que los almidones modificados obtuvieron un mayor porcentaje de eficiencia de encapsulación.
- Las microcápsulas tuvieron una actividad de agua dentro del intervalo establecido confirmando propiedades deseables para su almacenamiento y vida útil.
- Las micrografías proporcionaron información visual importante indicando el estado de los gránulos después de la modificación, así como la formación de los agregados esféricos durante la técnica de secado por aspersión.
- Durante el almacenamiento de las microcápsulas hubo una degradación de compuestos bioactivos tanto en el almidón nativo como en los almidones modificados a 67 y 70 °C, sin embargo, la mayor estabilidad fue observada en las microcápsulas de los almidones modificados.
- Hasta el momento no se han reportado estudios en donde utilicen el almidón modificado por annealing como material pared, por lo que los resultados de este proyecto son importantes para futuras investigaciones.

## 7. REFERENCIAS

- Abdullah, N., Nawawi, A., y Othman, I. (2000). Fungal spoilage of starch-based foods in relation to its water activity ( $a_w$ ). *Journal of Stored Products Research*, 36(1), 47-54. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(99\)00026-0](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00026-0)
- Aboubakar, Y. N., Scher, J., y Mbofung, C. M. F. (2008). Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) flours and starches. *Journal of Food Engineering*, 86(2), 294-305.
- Agama-Acevedo, E., Garcia-Suarez, F. J., Gutierrez-Meraz, F., Sanchez-Rivera, M. M., San Martin, E., y Bello-Pérez, L. A. (2011). Isolation and partial characterization of Mexican taro (*Colocasia esculenta* L.) starch. *Starch-Stärke*, 63(3), 139-146.
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., y Gani, A. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using  $\beta$  glucan and  $\beta$  cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. *International journal of biological macromolecules*, 109, 435-442.
- Ahmad, S. U., Li, B., Sun, J., Arbab, S., Dong, Z., Cheng, F., Zhou, X., M., y Zhang, J. (2021). Recent advances in microencapsulation of drugs for veterinary applications. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 44(3), 298-312.
- Ahmed, A., y Khan, F. (2013). Extraction of starch from taro (*Colocasia esculenta*) and evaluating it and further using taro starch as disintegrating agent in tablet formulation with over all evaluation. *Inventi Rapid: Novel Excipients*, 2, 1-5.
- Alcázar-Alay, S. C., y Meireles, M. A. A. (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. *Food Science and Technology*, 35, 215-236.
- Ali, B. H., Wabel, N. A., y Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(5), 369-375.
- Ali, S. A. M., y Latip, J. (2020). Rapid investigation of the metabolite content in *Hibiscus sabdariffa* var. UKMR-2 cultivated under the influence of elevated CO<sub>2</sub> using tri-step FT-IR spectroscopy. *Journal Teknologi*, 83(1), 75-83.

- Amaya-Pinos, J. B. (2019). Estudio da dosagem do amido extraído de bananas em um polímero de tipo termoplástico. *Revista Colombiana de Química*, 48(1), 43-51.
- Amit, S. K., Uddin, M. M., Rahman, R., Islam, S. R., y Khan, M. S. (2017). A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*, 6, 1-22.
- Amogne, N. Y., Ayele, D. W., y Tsigie, Y. A. (2020). Recent advances in anthocyanin dyes extracted from plants for dye sensitized solar cell. *Materials for Renewable and Sustainable Energy*, 9(4), 1-16.
- Andrade, L. A., Barbosa, N. A., y Pereira, J. (2017). Extraction and properties of starches from the non-traditional vegetables Yam and Taro. *Polímeros*, 27, 151-157.
- Aprianita, A., Vasiljevic, T., Bannikova, A., y Kasapis, S. (2014). Physicochemical properties of flours and starches derived from traditional Indonesian tubers and roots. *Journal of food science and technology*, 51(12), 3669-3679.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., Michel-Aceves, A.C., Guzmán-Maldonado, S.H., y Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma Blanca' y 'Rosalíz' de color claro, y 'Cotzaltzin' y 'Tecoanapa' de color rojo. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 181-185.
- Arepally, D., y Goswami, T. K. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *Lwt*, 99, 583-593.
- Arruda, H. S., Silva, E. K., Peixoto Araujo, N. M., Pereira, G. A., Pastore, G. M., y Marostica Junior, M. R. (2021). Anthocyanins Recovered from Agri-Food By-Products Using Innovative Processes: Trends, Challenges, and Perspectives for Their Application in Food Systems. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(9), 2632. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26092632>
- Assadpour, E., y Jafari, S. M. (2019). Advances in spray-drying encapsulation of food bioactive ingredients: From microcapsules to nanocapsules. *Annual review of food science and technology*, 10, 103-131.
- Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jiménez, M. T., San Martín-Gonzalez, M. F., y Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate polymers*, 102, 423-430.

- Azubuike, N. C., Maduakor, U. C., Ikele, I. T., Onwukwe, O. S., Onyemelukw, A. O., y Nwanjiobi, D. U. (2018). Nutritional profile, proximate composition and health benefits of *Colocasia esculenta* leaves: An underutilized leafy vegetable in Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(12), 689-695.
- Bah, M. G., Bilal, H. M., y Wang, J. (2020). Fabrication and application of complex microcapsules: A review. *Soft Matter*, 16(3), 570-590.
- Bashir, K., y Aggarwal, M. (2019). Physicochemical, structural and functional properties of native and irradiated starch: a review. *Journal of food science and technology*, 56(2), 513–523. Doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3530-2>.
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., Fernández-Gutiérrez, A., Gómez- Leyvac, J.F., y Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69, 385-394.
- Bouayed, J., y Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(4), 228-237.
- Brangule, A., Šukele, R., y Bandere, D. (2020). Herbal medicine characterization perspectives using advanced FTIR sample techniques—diffuse reflectance (DRIFT) and photoacoustic spectroscopy (PAS). *Frontiers in plant science*, 11, 356.
- Brust, H., Orzechowski, S., y Fettke, J. (2020). Starch and glycogen analyses: Methods and techniques. *Biomolecules*, 10(7), 1020.
- Çam, M., İçyer, N. C., y Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 117-123.
- Chen, L., Ma, R., McClements, D. J., Zhang, Z., Jin, Z., y Tian, Y. (2019). Impact of granule size on microstructural changes and oil absorption of potato starch during frying. *Food Hydrocolloids*, 94, 428-438.
- Choong, Y. K., Mohd Yousof, N. S. A., Jamal, J. A., y Wasiman, M. I. (2019). Determination of anthocyanin content in two varieties of *Hibiscus sabdariffa* L. from Selangor,

- Malaysia using a combination of chromatography and spectroscopy. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 3, 067-075.
- Choudhury, N., Meghwal, M., y Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 1–17. Doi: <https://doi.org/10.1002/fft2.94>.
- Chung, H. J., Lee, S. Y., Kim, J. H., Lee, J. W., Byun, M. W., y Lim, S. T. (2010). Pasting characteristics and in vitro digestibility of  $\gamma$ -irradiated RS4 waxy maize starches. *Journal of Cereal Science*, 52(1), 53-58.
- Chung, H. J., y Liu, Q. (2009). Effect of gamma irradiation on molecular structure and physicochemical properties of corn starch. *Journal of Food Science*, 74(5), 353-361.
- Collins, H. M., Betts, N. S., Dockter, C., Berkowitz, O., Braumann, I., Cuesta-Seijo, J. A., Skadhauge, B., Whelan, J., Bulone, V., y Fincher, G. B. (2021). Genes That Mediate Starch Metabolism in Developing and Germinated Barley Grain. *Frontiers in plant science*, 12, 208.
- Cornejo-Ramírez, Y. I., Martínez-Cruz, O., Del Toro-Sánchez, C. L., Wong-Corral, F. J., Borboa-Flores, J., y Cinco-Moroyoqui, F. J. (2018). The structural characteristics of starches and their functional properties. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 1003-1017.
- da Rosa, J. R., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Weis, G. C. C., Hecktheuer, L. H. R., Muller, E. I., de Menezes, R., y da Rosa, C. S. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium spp.*) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food hydrocolloids*, 89, 742-748.
- da Rosa Zavareze, E., y Dias, A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate polymers*, 83(2), 317-328.
- Dangles, O., y Fenger, J. A. (2018). The Chemical Reactivity of Anthocyanins and Its Consequences in Food Science and Nutrition. *Molecules*, 23(8), 1970. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23081970>.
- Das, A. B., Goud, V. V., y Das, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin extract from purple rice bran using modified rice starch and its effect on rice dough rheology. *International journal of biological macromolecules*, 124, 573-581.

- Deka, D., y Sit, N. (2016). Dual modification of taro starch by microwave and other heat moisture treatments. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 416-422.
- Dhakal, S. P., y He, J. (2020). Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, 137, 109326. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109326>.
- Dias, A. R. G., da Rosa Zavareze, E., Spier, F., de Castro, L. A. S., y Gutkoski, L. C. (2010). Effects of annealing on the physicochemical properties and enzymatic susceptibility of rice starches with different amylose contents. *Food Chemistry*, 123(3), 711-719.
- Díaz, D. I., Beristain, C. I., Azuara, E., Luna, G., y Jimenez, M. (2015). Effect of wall material on the antioxidant activity and physicochemical properties of *Rubus fruticosus* juice microcapsules. *Journal of microencapsulation*, 32(3), 247-254.
- Diessana, A., Parkouda, C., Cissé, M., Diawara, B., y Dicko, M. (2015). Optimization of aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces for food application. *Food Science and Quality Management*, 25, 23-31.
- Dihyam, H. A., Barminas, J. T., Yelwa, J. M., y Babakura, M. (2021). Thermodynamic studies of acetylated *Hibiscus sabdariffa* L. fibre for use as oil sorbents.
- Ding, Z., Tao, T., Wang, X., Prakash, S., Zhao, Y., Han, J., y Wang, Z. (2020). Influences of different carbohydrates as wall material on powder characteristics, encapsulation efficiency, stability and degradation kinetics of microencapsulated lutein by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(7), 2872-2882.
- do Amaral, P. H. R., Andrade, P. L., y de Conto, L. C. (2019). Microencapsulation and Its Uses in Food Science and Technology: A. *Microencapsulation: Processes, Technologies and Industrial Applications*, 93- 110.
- Dos Santos, T. P. R., Franco, C. M. L., Demiate, I. M., Li, X. H., Garcia, E. L., Jane, J. L., y Leonel, M. (2018). Spray-drying and extrusion processes: Effects on morphology and physicochemical characteristics of starches isolated from Peruvian carrot and cassava. *International journal of biological macromolecules*, 118, 1346-1353.
- Ersus, S., y Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of food engineering*, 80(3), 805-812.

- Eun, J.-B., Maruf, A., Das, P. R., y Nam, S.-H. J. (2020). A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 60(21), 3547-3572.
- Falade, K. O., y Okafor, C. A. (2013). Physicochemical properties of five cocoyam (*Colocasia esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium*) starches. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 173-181.
- Fang, Q., Lan, Y., Kocher, M. F., y Hanna, M. A. (2000). Thermal conductivity of granular rice starches. *International Journal of Food Properties*, 3(2), 283-293.
- Fernández-Arroyo, S., Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Pasini, F., Joven, J., Micol, V., Segura-Carretero, A., y Fernández-Gutiérrez, A. (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract. *Food research international*, 44(5), 1490-1495.
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F. J., Flores-Huicochea, E., Núñez-Santiago, M. C., González-Soto, R. A., y Bello-Pérez, L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55(1), 86-90.
- Garnero, C., y Longhi, M. (2007). Study of ascorbic acid interaction with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin and triethanolamine, separately and in combination. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 45(4), 536-545.
- Gartaula, C., y Karki, D. B. (2010). Optimization of Extraction of Anthocyanins from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) in Aqueous Medium. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 6, 69-72.
- Gomes, A. M., da Silva, C. E. M., y Ricardo, N. M. (2005). Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (*polvilho azedo*). *Carbohydrate Polymers*, 60(1), 1-6.
- Gonzalez-Soto, R. A., de la Vega, B., García-Suarez, F. J., Agama-Acevedo, E., y Bello-Pérez, L. A. (2011). Preparation of spherical aggregates of taro starch granules. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2064-2069. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.018>.

- Hamrita, B., Emira, N., Papetti, A., Badraoui, R., Bouzlama, L., Ben Tekfa, M. I., Hamdi, A., Patel, M., Elsbali, A.M., Adnan, M., Ashraf, S.A., y Snoussi, M. (2022). Phytochemical analysis, antioxidant, antimicrobial, and anti-swarming properties of *Hibiscus sabdariffa* L. calyx extracts: In Vitro and In Silico modelling approaches. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.
- Hecht, J. P., y King, C. J. (2000). Spray drying: influence of developing drop morphology on drying rates and retention of volatile substances. 1. Single-drop experiments. *Industrial & engineering chemistry research*, 39(6), 1756-1765.
- Hoyos-Leyva, J., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., y Álvarez-Ramírez, J. (2018). Potential of taro starch spherical aggregates as wall material for spray drying microencapsulation: Functional, physical, and thermal properties. *International journal of biological macromolecules*, 120, 237-244.
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, J. E., Alvarez-Ramirez, J., y Jaramillo-Echeverry, L. M. (2019). Characterization of spray drying microencapsulation of almond oil into taro starch spherical aggregates. *Lwt*, 101, 526-533.
- Hoyos-Leyva, J. D., Chavez-Salazar, A., Castellanos-Galeano, F., Bello-Perez, L. A., y Alvarez-Ramirez, J. (2018). Physical and chemical stability of L-ascorbic acid microencapsulated into taro starch spherical aggregates by spray drying. *Food Hydrocolloids*, 83, 143-152.
- Huang, L., Tan, H., Zhang, C., Li, Q., y Liu, Q. (2021). Starch biosynthesis in cereal endosperms: An updated review over the last decade. *Plant communications*, 2(5), 100237. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100237>.
- Idham, Z., Muhamad, I. I., y Sarmidi, M. R. (2012). Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Food Process Engineering*, 35(4), 522-542.
- Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., y Williamson, G. (2018). Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* L. (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *Food chemistry*, 261, 164-168.
- Islam, M. M. (2019). Food and medicinal values of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. Linne Malvaceae) plant parts: A review. *Open J Nutr Food Sci*, 1(1), 1003.

- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., y Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying technology*, 26(7), 816-835.
- Jayakody, L., y Hoover, R. (2008). Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins—A review. *Carbohydrate polymers*, 74(3), 691-703.
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., y Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of food composition and analysis*, 24(6), 889-894.
- Jiang, Q., Gao, W., Li, X., y Zhang, J. (2011). Characteristics of native and enzymatically hydrolyzed *Zea mays L.*, *Fritillaria ussuriensis Maxim.* and *Dioscorea opposita Thunb.* starches. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 521-528.
- Johson, S., S. A. Razack, P. Sellaperumal, G. Ramakrishnan, P. Jayakrishnan, K. Sivanesan y R. Sahadevan. (2017). Antioxidant activity of iron isolated from petals of Hibiscus rosa-Sinensis. *EC Microbiology*. 7, 14-20.
- Jovanović, A. A., Lević, S. M., Pavlović, V. B., Marković, S. B., Pjanović, R. V., Đorđević, V. B., Nedović, V., y Bugarski, B. M. (2021). Freeze vs. Spray Drying for Dry Wild Thyme (*Thymus serpyllum L.*) Extract Formulations: The Impact of Gelatin as a Coating Material. *Molecules*, 26(13), 3933. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26133933>.
- Karmakar, R., Ban, D. K., y Ghosh, U. (2014). Comparative study of native and modified starches isolated from conventional and nonconventional sources. *International Food Research Journal*, 21(2), 597.
- Katleen J. R. Vallons , Liam A. M. Ryan y Elke K. Arendt. (2014). Pressure-Induced Gelatinization of Starch in Excess Water. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(3), 399-409. Doi: 10.1080/10408398.2011.587037
- Koh, W. Y., Lim, X. X., Tan, T. C., Kobun, R., y Rasti, B. (2022). Encapsulated Probiotics: Potential Techniques and Coating Materials for Non-Dairy Food Applications. *Applied Sciences*, 12(19), 10005.
- Lan, H., Hoover, R., Jayakody, L., Liu, Q., Donner, E., Baga, M., Asare, E.K., Hucl, P., y Chibbar, R. N. (2008). Impact of annealing on the molecular structure and

- physicochemical properties of normal, waxy and high amylose bread wheat starches. *Food Chemistry*, 111(3), 663-675.
- Lebot, V., Malapa, R., y Bourrieau, M. (2011). Rapid estimation of taro (*Colocasia esculenta*) quality by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(17), 9327-9334.
- Li, C., Wu, A., Yu, W., Hu, Y., Li, E., Zhang, C., y Liu, Q. (2020). Parameterizing starch chain-length distributions for structure-property relations. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116390. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116390>.
- Liu, J. L., Tsai, P. C., y Lai, L. S. (2021). Impacts of Hydrothermal Treatments on the Morphology, Structural Characteristics, and In Vitro Digestibility of Water Caltrop Starch. *Molecules*, 26(16), 4974.
- Liu, Y. (2014). Starch-pectin matrices for encapsulation of ascorbic acid. [Tesis maestría, Universidad de Nebraska]. Dissertations, Theses, & Student Research in Food Science and Technology. <https://core.ac.uk/download/pdf/188089607.pdf>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., y Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants, and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>.
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P., y Manian, S. (2013). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L. *Journal of food science and technology*, 50, 687-695.
- Longas, F. F., y Diaz, A. P. (2020). Accumulation dynamics and physicochemical variability of starch in cultivars of *Canna edulis* Ker. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 50, e58827. Doi: <https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5058827>.
- Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., Granato, D., y Rosso, N. D. (2018). *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 187-197.
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E., y Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International journal of biological macromolecules*, 85, 379-385.

- Maroulis, Z. B., Saravacos, G. D., Krokida, M. K., y Panagiotou, N. M. (2002). Thermal conductivity prediction for foodstuffs: effect of moisture content and temperature. *International Journal of Food Properties*, 5(1), 231-245.
- Mirzaei, M., Emam-Djomeh, Z., y Askari, G. (2021). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins of black seedless barberry (*Berberis vulgaris*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15858. Doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.15858>.
- Morales-Luna, E., Pérez-Ramírez, I. F., Salgado, L. M., Castaño-Tostado, E., Gómez-Aldapa, C. A., y Reynoso-Camacho, R. (2019). The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 596-605.
- Mucha, P., Skoczyńska, A., Małecka, M., Hikisz, P., y Budzisz, E. (2021). Overview of the Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Selected Plant Compounds and Their Metal Ions Complexes. *Molecules*, 26(16), 4886. <https://doi.org/10.3390/molecules26164886>
- Nahum, V., y Domb, A. J. (2021). Recent Developments in Solid Lipid Microparticles for Food Ingredients Delivery. *Foods*, 10(2), 400. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods10020400>.
- Navidad-Murrieta, M. S., López-Muñoz, H. A., Torres, L. M., Higuera-Ciapara, I., Vázquez-Lepe, M., García-Rivas, J. L., García-Gaitán, B., Sáyago-Ayerdi, S.G., y Luna-Bárcenas, G. (2023). In Vitro Study on the Effect of the Appropriate Encapsulating Agent for the Release of Phenolic Compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. Linn Extracts. *ACS Food Science & Technology*, 3(4), 608-615.
- Navidad-Murrieta, M. S., Pérez-Larios, A., Sánchez-Burgos, J. A., Ragazzo-Sánchez, J. A., Luna-Bárcenas, G., y Sáyago-Ayerdi, S. G. (2020). Use of a taguchi design in *Hibiscus sabdariffa* L. extracts encapsulated by spray-drying. *Foods*, 9(2), 128.
- Nguyen, Q. D., Dang, T. T., Nguyen, T. V., Nguyen, T. T., y Nguyen, N. N. (2021). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food science & nutrition*, 10(1), 191–203. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2659>

- Oancea S. (2021). A Review of the Current Knowledge of Thermal Stability of Anthocyanins and Approaches to Their Stabilization to Heat. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1337. Doi: <https://doi.org/10.3390/antiox10091337>.
- Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Omoregie, H. (2019). Chemical Properties of Starch and Its Application in the Food Industry. Chemical properties of starch. *Intechopen*, 13, 1-9.
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., y Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food chemistry*, 272, 494-506.
- Pachau, L., Dutta, R. S., Devi, T. B., Deka, D., y Hauzel, L. (2018). Taro starch (Colocasia esculenta) and citric acid modified taro starch as tablet disintegrating agents. *International journal of biological macromolecules*, 118, 397-405.
- Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Lagazzo, A., Botter, R., y Perego, P. (2015). Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 177-186.
- Paraíso, C. M., dos Santos, S. S., Ogawa, C. Y. L., Sato, F., dos Santos, O. A., y Madrona, G. S. (2020). *Hibiscus sabdariffa* L. extract: Characterization (FTIR-ATR), storage stability and food application. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 55-61.
- Park, S., y Kim, Y. R. (2020). Clean label starch: production, physicochemical characteristics, and industrial applications. *Food science and biotechnology*, 30(1), 1-17.
- Patel, A. S., Kar, A., y Mohapatra, D. (2020). Development of microencapsulated anthocyanin-rich powder using soy protein isolate, jackfruit seed starch and an emulsifier (NBRE-15) as encapsulating materials. *Scientific Reports*, 10(1), 10198.
- Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., y Solis-Oviedo, R. L. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197.
- Puelles-Román, J., Barroso, N. G., Cruz-Tirado, J. P., Tapia-Blácido, D. R., Angelats-Silva, L., Barraza-Jáuregui, G., y Siche, R. (2021). Annealing process improves the physical, functional, thermal, and rheological properties of Andean oca (*Oxalis tuberosa*) starch. *Journal of Food Process Engineering*, 44(6), e13702.

- Punia, S. (2020). Barley starch modifications: Physical, chemical and enzymatic-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 578-585.
- Punia, S., Kumar, M., Siroha, A. K., Kennedy, J. F., Dhull, S. B., y Whiteside, W. S. (2021). Pearl millet grain as an emerging source of starch: A review on its structure, physicochemical properties, functionalization, and industrial applications. *Carbohydrate Polymers*, 117776. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117776>.
- Ramirez-Rodrigues, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., y Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of food science*, 76(3), C428-C435.
- Ratnayake, W. S., y Jackson, D. S. (2008). Starch gelatinization. *Advances in food and nutrition research*, 55, 221-268.
- Reyna, E. N., Álvarez, G. M., Iliná, A., y Hernández, J. L. M. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 64-70.
- Ribeiro, J. S., y Veloso, C. M. (2021). Microencapsulation of natural dyes with biopolymers for application in food: A review. *Food hydrocolloids*, 112, 106374. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106374>.
- Rigon, R. T., y Zapata-Noreña, C. P. (2016). Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry (*Rubus fruticosus*). *Journal of food science and technology*, 53, 1515-1524.
- Riley, C. K., Wheatley, A. O., y Asemota, H. N. (2006). Isolation and characterization of starches from eight *Dioscorea alata* cultivars grown in Jamaica. *African Journal of Biotechnology*, 5(17).
- Rincón-Aguirre, A., Bello Pérez, L. A., Mendoza, S., del Real, A., y Rodríguez García, M. E. (2018). Physicochemical studies of taro starch chemically modified by acetylation, phosphorylation, and succinylation. *Starch-Stärke*, 70(3-4), 1700066.
- Romero-Hernandez, H. A., Sánchez-Rivera, M. M., Alvarez-Ramirez, J., Yee-Madeira, H., Yañez-Fernandez, J., y Bello-Pérez, L. A. (2021). Avocado oil encapsulation with OSA-esterified taro starch as wall material: Physicochemical and morphology characteristics. *LWT*, 138, 110629.
- Rosales-Chimal, S., Navarro-Cortez, R. O., Bello-Perez, L. A., Vargas-Torres, A., y Palma-Rodríguez, H. M. (2023). Optimal conditions for anthocyanin extract

microencapsulation in taro starch: Physicochemical characterization and bioaccessibility in gastrointestinal conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 227, 83-92.

Ross IA. 2003. *Hibiscus sabdariffa*. In *Medicinal Plants of the World*, Vol 1, 2nd edn. Humana Press: New Jersey, 267–275. [https://doi.org/10.1007/978-1-59259-365-1\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-59259-365-1_13)

Roy, S., y Rhim, J. W. (2021). Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(14), 2297-2325.

Saberi Riseh, R., Skorik, Y. A., Thakur, V. K., Moradi Pour, M., Tamanadar, E., y Noghabi, S. S. (2021). Encapsulation of Plant Biocontrol Bacteria with Alginate as a Main Polymer Material. *International journal of molecular sciences*, 22(20), 11165. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms222011165>.

Sadiq, U., Gill, H., y Chandrapala, J. (2021). Casein Micelles as an Emerging Delivery System for Bioactive Food Components. *Foods*, 10(8), 1965. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods10081965>.

Saifullah, M., Shishir, M. R. I., Ferdowsi, R., Rahman, M. R. T., y Van Vuong, Q. (2019). Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 230-251.

Salazar-González, C. S., Balderas, F. T. V., Regules, A. O., y Beltrán, J. A. G. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 39(1), 79-90.

Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S.R., Shaddel, R., Akbari-Alavijeh, S., y Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*. 108, 297-325.

Sanchez-Chino, X. M., Corzo-Rios, L. J., Jimenez-Martinez, C., Arguello-Garcia, E., y Martinez-Herrera, J. (2021). Nutritional Chemical Analysis of Taro (*Colocasia esculenta* Schott) Accessions from the State of Tabasco, Mexico. *AGROProductividad*, 14(10), 173-181.

- Sanou, A., Konate, K., Dakuyo, R., Kabore, K., Sama, H., y Dicko, M. H. (2022). *Hibiscus sabdariffa*: Genetic variability, seasonality and their impact on nutritional and antioxidant properties. *Plos one*, 17(3), e0261924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261924>
- Schafranski, K., Ito, V. C., y Lacerda, L. G. (2021). Impacts and potential applications: A review of the modification of starches by heat-moisture treatment (HMT). *Food Hydrocolloids*, 117, 106690.
- Secretaría de agricultura y desarrollo rural (06 de febrero de 2021). Refrescante y nutritivo sabor de la Jamaica. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/refrescante-y-nutritivo-sabor-de-la-jamaica?idiom=es>.
- Setiarto, R. H. B., Kusumaningrum, H. D., Jenie, B. S. L., Khusniati, T., Widhyastuti, N., y Ramadhani, I. (2020). Microstructure and physicochemical characteristics of modified taro starch after annealing, autoclaving-cooling and heat moisture treatment. *Food Research*, 4(4), 1226-1233.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Valere, P., Fokou, T., Azzini, E., Peluso, I., Mishra, A.P., Nigam, M., El Rayess, Y., El Beyrouthy, M., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., Setzer, W. N., Calina, D., Cho, W. C., y Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- Shi, X., Ding, Y., Wan, J., Liu, C., Prakash, S., y Xia, X. (2021). Effect of Annealing on Structural, Physicochemical, and In Vitro Digestive Properties of Starch from *Castanopsis sclerophylla*. *Starch-Stärke*, 73(7-8), 2100005.
- Singha, A. S., Thakur, V. K., Mehta, I. K., Shama, A., Khanna, A. J., Rana, R. K., Y Rana, A. K. (2009). Surface-modified *Hibiscus sabdariffa* fibers: Physicochemical, thermal, and morphological properties evaluation. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 14(8), 695-711.
- Singh, J., McCarthy, O. J., y Singh, H. (2006). Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. *Carbohydrate polymers*, 64(4), 569-581.

- Singh, M., Dua, J.S., Menra, M., Soni, M., y Prasad, D.N. (2016). Microencapsulation and its various aspects: a review. *International Journal of Advanced Research*, 4 (6), 2094-2108. Doi: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01>.
- Singla, D., Singh, A., Dhull, S. B., Kumar, P., Malik, T., y Kumar, P. (2020). Taro starch: Isolation, morphology, modification and novel applications concern-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1283-1290.
- Sit, N., Misra, S., y Deka, S. C. (2014). Characterization of physicochemical, functional, textural and color properties of starches from two different varieties of taro and their comparison to potato and rice starches. *Food Science and Technology Research*, 20(2), 357-365.
- Sit, N., Deka, S. C., y Misra, S. (2015). Optimization of starch isolation from taro using combination of enzymes and comparison of properties of starches isolated by enzymatic and conventional methods. *Journal of food science and technology*, 52, 4324-4332.
- Sobieralska, M. y Kurek M. A. (2019). "Beta-glucan as wall material in encapsulation of elderberry (*Sambucus nigra*) extract". *Plant Foods for Human Nutrition* 74 (3), 334-341.
- Sukhija, S., Singh, S., y Riar, C. S. (2016). Isolation of starches from different tubers and study of their physicochemical, thermal, rheological, and morphological characteristics. *Starch-Stärke*, 68(1-2), 160-168.
- Sun, X., Cameron, R. G., Manthey, J. A., Hunter, W. B., y Bai, J. (2020). Microencapsulation of tangeretin in a citrus pectin mixture matrix. *Foods*, 9(9), 1200. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods9091200>.
- Syed, F. N., Zakaria, M. H., Bujang, J. S., y Christianus, A. (2021). Characterization, functional properties, and resistant starch of freshwater macrophytes. *International journal of food science*, 2021.
- Tattiyakul, J., Asavasaksakul, S., y Pradipasena, P. (2006). Chemical and physical properties of flour extracted from taro *Colocasia esculenta* (L.) Schott grown in different regions of Thailand. *Science Asia*, 32(3), 279-284.

- Tavakolifar, F., Givianrad, M. H., y Saber-Tehrani, M. (2016). Extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. and assessment of its antioxidant properties in extra virgin olive oil. *Fresenius Environ. Bull*, 25, 3709-3713.
- Tester, R. F., y Debon, S. J. (2000). Annealing of starch—a review. *International journal of biological macromolecules*, 27(1), 1-12.
- Thomaz, L., Ito, V. C., Malucelli, L. C., da Silva Carvalho Filho, M. A., Demiate, I. M., Bet, C. D., Tolentino Marinho, M., Schnitzler, E., y Lacerda, L. G. (2020). Effects of dual modification on thermal, structural, and pasting properties of taro (*Colocasia esculenta* L.) starch. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 139(5), 3123-3132.
- Tonon, R. V., Brabet, C., y Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food research international*, 43(3), 907-914.
- Torres Becerril, M., Carmona García, R., y Aguirre Cruz, A. (2015). Obtaining and structural characterization and functional of acetylated starch of taro (*Colocasia esculenta* Schott). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(4), 905-912.
- Tupuna, D. S., Paese, K., Guterres, S. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., y de Oliveira Rios, A. (2018). Encapsulation efficiency and thermal stability of norbixin microencapsulated by spray-drying using different combinations of wall materials. *Industrial crops and products*, 111, 846-855.
- Valle, J. A. B., Valle, R. D. C. S. C., Bierhalz, A. C. K., Bezerra, F. M., Hernandez, A. L., y Lis Arias, M. J. (2021). Chitosan microcapsules: Methods of the production and use in the textile finishing. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(21), 50482.
- Van Soest, J. J., Tournois, H., de Wit, D., y Vliegthart, J. F. (1995). Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate research*, 279, 201-214.
- Vergara, C., Pino, M. T., Zamora, O., Parada, J., Pérez, R., Uribe, M., y Kalazich, J. (2020). Microencapsulation of anthocyanin extracted from purple flesh cultivated potatoes by spray drying and its effects on in vitro gastrointestinal digestion. *Molecules*, 25(3), 722.

- Wang, N., y Brennan, J. G. (1992). Thermal conductivity of potato as a function of moisture content. *Journal of food engineering*, 17(2), 153-160.
- Wang, S., Jin, F., y Yu, J. (2013). Pea starch annealing: New insights. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3564-3575.
- Wang, S., Wang, J., Wang, S., y Wang, S. (2017). Annealing improves paste viscosity and stability of starch. *Food Hydrocolloids*, 62, 203-211.
- Wang, X., Reddy, C. K., y Xu, B. (2018). A systematic comparative study on morphological, crystallinity, pasting, thermal and functional characteristics of starches resources utilized in China. *Food chemistry*, 259, 81-88.
- Wang, J., Ye, Y., Chai, Z., Liu, H., Wei, X., Ye, X., Tian, J., y Fang, H. (2023). Physicochemical properties and in vitro digestibility of proso millet starch modified by heat-moisture treatment and annealing processing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123829.
- Wardana, A. A., y Surono, I. S. (2019, November). Resistant starch content, pasting properties, and structure of modified taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) starch granule by steam cooking. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1363, No. 1, p. 012008). IOP Publishing.
- Wong, S. P., Leong, L. P., y Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*, 99(4), 775-783.
- Wongsagonsup, R., Nateelerdpaisan, T., Gross, C., Suphantharika, M., Belur, P. D., Agoo, E. M. G., y Janairo, J. I. B. (2021). Physicochemical properties and in vitro digestibility of flours and starches from taro cultivated in different regions of Thailand. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(5), 2395-2406.
- Yamanouchi, H., Tokimura, K., Miura, N., Ikezawa, K., Onjo, M., Minami, Y., y Kajiya, K. (2021). Effects of flooding cultivation on the composition and quality of taro (*Colocasia esculenta* cv. Daikichi). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.11469>.
- Yamanouchi, H., Tokimura, K., Miura, N., Ikezawa, K., Onjo, M., Minami, Y., y Kajiya, K. (2022). Effects of flooding cultivation on the composition and quality of taro (*Colocasia esculenta* cv. Daikichi). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(4), 1372-1380.

- Yan, Y., Peng, B., Niu, B., Ji, X., He, Y., y Shi, M. (2022). Understanding the structure, thermal, pasting, and rheological properties of potato and pea starches affected by annealing using plasma-activated water. *Frontiers in Nutrition*, 9, 19.
- Yang, L., Gou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zhang, B., y Wu, X. (2012). Antioxidant capacity of extracts from calyx fruits of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11(17), 4063-4068.
- Yang, M., Liang, Z., Wang, L., Qi, M., Luo, Z., y Li, L. (2020). Microencapsulation delivery system in food industry—Challenge and the way forward. *Advances in Polymer Technology*, 2020.
- Zarski, A., Bajer, K., y Kapuśniak, J. (2021). Review of the most important methods of improving the processing properties of starch toward non-food applications. *Polymers*, 13(5), 832.
- Zdybel, E., Wilczak, A., Kapelko-Żeberska, M., Tomaszewska-Ciosk, E., Gryszkin, A., Gawrońska, A., y Zięba, T. (2021). Physicochemical Properties and Digestion Resistance of Acetylated Starch Obtained from Annealed Starch. *Polymers*, 13(23), 4141. <https://doi.org/10.3390/polym13234141>.