



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E
INGENIERÍA

TÍTULO DE TESIS

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE E INHIBIDORA DE LA
ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA DEL
EXTRACTO DE *Hibiscus sabdariffa* L. OPTIMIZADO Y
MICROENCAPSULADO CON ALMIDÓN POROSO Y
GOMA ARÁBIGA**

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

PRESENTA

M. en C. ROMÁN LEYVA LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. HEIDI MARIA PALMA RODRÍGUEZ

CO- DIRECTOR

DR. APOLONIO VARGAS TORRES

Tulancingo de Bravo, Hidalgo., México

junio del 2024



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Medical Sciences

Área Académica de Nutrición

Department of Nutrition

San Agustín, Tlaxiaca, Hgo., 17 junio 2024

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado al **Mtro. Román Leyva López** con número de cuenta **162750**, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana ha terminado el trabajo de tesis titulado **“Actividad antioxidante e inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. optimizado y microencapsulado con almidón poroso y goma arábica”**, y por lo tanto se autoriza la impresión del documento en extenso propuesto por el/la estudiante después de haber sido revisado, analizado y evaluado de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 73, VI del Reglamento General de Estudios de Posgrado. Lo anterior, en función de que, el/la estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 16 de junio 2024. Por tal motivo, solicitamos a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

DRA. HEIDI MARIA PALMA RODRÍGUEZ
Directora de tesis
DR. APOLONIO VARGAS TORRES
Codirector
DR. JUAN PABLO HERNÁNDEZ URIBE
Integrante Comité tutorial
DRA. RAQUEL CARIÑO CORTÉS
Integrante Comité tutorial

ATENTAMENTE
“Amor, Orden y Progreso”

M.C. Esp. Enrique Espinosa Aquino
Director del Instituto de Ciencias de la Salud
Dean
Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino
Jefa del Área Académica de Nutrición
Chair of Academic Area of Nutrition
Dra. Lydia López Pontigo
Coordinadora de Posgrado del ICSa
Director of Graduate Studies of ICSa
Dra. Esther Ramírez Moreno
Representante del Programa Educativo ICSa
Representative of Graduate Studies

Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n
Carretera Pachuca Actopan, San Agustín
Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 41524 y
41528
nutricion@uaeh.edu.mx

AGRADECIMIENTOS

Gracias, ante todo, a Dios, por acompañarme y guiarme en todo momento, permitiéndome recibir sus maravillosos regalos: Entendimiento, Discernimiento, Paciencia, Sabiduría, Consejo, Ciencia y, sobre todo, la capacidad de reconocerlos, aceptarlos y ponerlos en práctica. Por tu amor infinito, ¡gracias, Señor!

A mi familia. En los días turbulentos, han sido mi ancla, porque tantas veces fueron la fuerza tangible que me llevó hasta este momento. Esta tesis se teje con hilos de su amor, apoyo, empatía, fortaleza, respaldo, un reflejo de la seguridad que me brindan. Gracias por apoyarme en mis momentos de flaqueza. Son la melodía que da ritmo a mi viaje y la paz en medio de la tormenta.

A mis padres. Este logro profesional es un reflejo del incansable esfuerzo que han invertido para brindarme una educación sólida. Cada sacrificio que han hecho, cada día de trabajo duro y cada decisión que tomaron en mi nombre son el fundamento de mi éxito. Su dedicación y compromiso con mi educación son un regalo que valoro más allá de las palabras. Esta tesis es un testimonio de su sacrificio y amor, y me llena de orgullo honrarlos de esta manera. Gracias por ser los faros en mi vida, por iluminar el camino hacia el conocimiento y por inculcarme la importancia del trabajo duro y la educación. Los amo profundamente.

A los Doctores por su compromiso, enseñanzas, conocimientos, apoyo, dedicación, tiempo, paciencia, motivación e inspiración brindados en la estancia doctoral.

En memoria de mi Padre[†], fuente de inspiración y perseverancia. Tu espíritu, amor y enseñanzas continúan guiándome en cada paso de este camino.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue establecer las condiciones óptimas del extracto de *Hibiscus sabdariffa* (EHS); y de la encapsulación del extracto de utilizando una mezcla de almidón poroso de maíz- goma arábica (APM-GA) para mejorar la retención de compuestos antioxidantes (RCA), la actividad antioxidante, la eficiencia de encapsulación, la estabilidad, la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos y actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). La metodología de superficie de respuesta (MSR) se ha utilizado para optimizar las condiciones de extracción como el tiempo de extracción, la relación cáliz/solvente y la temperatura; y las condiciones de microencapsulación mediante secado por aspersion, como la temperatura de entrada (TE), concentración de sólidos totales (CST) y la relación APM-GA. Las condiciones de optimización fueron de 0.03 g/mL (relación cáliz/solvente), 12.1 min y 91.6 °C para obtener el extracto. Con estas condiciones el contenido de compuestos bioactivos en el EHS optimizado fueron 990±53 EC3G/100g, 3195±89 mg EAG/100g, 895±25mg EQ/100g, 3799±133 mmol ET/100g y 1971±57 mmol ET/100g para antocianinas monoméricas totales (AMT), compuestos fenólicos totales (PT), flavonoides totales (FT), capacidad antioxidante ABTS y DPPH respectivamente y una inhibición de la ECA de 73.8%-79.2%. Las condiciones óptimas para obtener las microcápsulas por MSR fueron a 126 °C en TE y de 8.5% de concentración de solidos totales (92% APM - 8% GA). Con estas condiciones el contenido de compuestos bioactivos en las microcápsulas optimizadas (MO) fueron de 2368 mg EAG/100g; 694 mg EQ/100g; 930 mg EC-3G/100g; 423 mmol TE/g para los compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, y actividad DPPH, respectivamente. La actividad de agua fue de 0.204, con una eficiencia de encapsulación de 76.1%. La retención de compuestos bioactivos bajo condiciones de

envejecimiento acelerado fue 40% a las 8 semanas de almacenamiento. Los estudios de bioaccesibilidad muestran que MO tienen buena estabilidad durante la digestión y una liberación controlada. En general, los resultados sugieren que las MO con APM-GA como material pared y usando MSR dan como resultado condiciones efectivas de protección, contribuyendo a la estabilidad de compuestos bioactivos hasta por 8 semanas de almacenamiento. Las MO mostraron una mayor actividad inhibidora de la ECA ($28.6 \pm 2.1\%$) en comparación con el EHS libre ($6.7 \pm 0.54\%$) después de 4 semanas de envejecimiento, dando como resultado una protección a los compuestos encargados de esta actividad.

ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN	12
2.	MARCO TEÓRICO.....	14
2.1.	Hipertensión.....	14
2.2.	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	15
2.2.1.	Composición nutricional	16
2.2.2.	Actividad Antihipertensiva.....	18
2.2.2.1.	Inhibición de ECA	19
2.2.3.	Toxicología.....	19
2.3.	Microencapsulación	20
2.3.1.	Estructura de las microcápsulas.....	21
2.3.2.	Métodos de encapsulación.....	22
2.3.2.1.	Secado por aspersión.....	23
2.3.3.	Materiales encapsulantes.....	25
2.3.3.1.	Encapsulación con polisacáridos	27
2.3.4.	Aplicación de almidón como material pared.....	29
2.3.5.	Modificaciones para obtención de almidones porosos	30
2.3.5.1.	Métodos enzimáticos	30
2.3.6.	Aplicación de los almidones porosos obtenidos enzimáticamente.....	31
2.3.7.	Compuestos microencapsulados.....	35
2.3.7.1.	Encapsulación de compuestos fenólicos.....	35
2.3.7.2.	Encapsulación de extracto <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	38
3.	JUSTIFICACIÓN	40
4.	OBJETIVOS.....	42
4.1.	Objetivo general.....	42
4.2.	Objetivos específicos	42
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	43
5.1.	Materiales.....	43

5.2.	Obtención de extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	43
5.2.1.	Diseño experimental Box-Behnken	43
5.3.	Caracterización del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	47
5.3.1.	Cuantificación de antocianinas monoméricas totales	47
5.3.2.	Cuantificación de flavonoides	47
5.3.3.	Cuantificación de fenoles totales	48
5.3.4.	Actividad antirradical ABTS y DPPH	48
5.3.5.	Actividad inhibitoria de la ECA	48
5.4.	Obtención de almidón poroso	50
5.4.1.	Caracterización morfológica de los almidones: SEM.....	50
5.4.2.	Caracterización fisicoquímica de los almidones	50
5.4.2.1.	Absorción de agua y aceite	50
5.4.2.2.	Capacidad de adsorción de tinte (DAC)	51
5.4.3.	Propiedades térmicas de los almidones.....	51
5.4.4.	Análisis rápido de viscosidad	51
5.5.	Microencapsulación del extracto <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	52
5.6.	Cuantificación de compuestos bioactivos en los microencapsulados	55
5.7.	Retención de compuestos activos de microcápsulas.....	55
5.8.	Determinación de la actividad del agua en microcápsulas	55
5.9.	Microscopia electrónica de barrido.....	55
5.10.	Digestión <i>in vitro</i>	56
5.11.	Estudio de estabilidad	56
5.12.	Actividad inhibitoria de ECA	56
5.13.	Diseño experimental y análisis estadístico	57
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	59
6.1.	Extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	59
6.1.1.	Antocianinas monoméricas totales	62
6.1.2.	Fenoles totales y flavonoides.....	63
6.1.3.	Actividad antioxidante DPPH y ABTS.....	65

6.1.4.	Verificación de valores predictivos	67
6.1.5.	Actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)	69
6.2.1.	Hidrólisis enzimática de almidón de maíz	70
6.2.2.	Capacidad de adsorción.....	73
6.2.3.	Calorimetría Diferencial de Barrido	74
6.2.4.	Análisis Rápido de Viscosidad	75
6.3.	Microcápsulas	77
6.3.1.	Actividad de agua	77
6.3.2.	Compuestos fenólicos totales y flavonoides totales	82
6.3.3.	Antocianinas monoméricas totales	85
6.3.4.	Actividad antirradical DPPH	87
6.3.5.	Eficiencia de encapsulación (EE)	88
6.3.6.	Estabilidad de antocianinas (Retención)	89
6.3.7.	Optimización	90
6.3.8.	Análisis cinético de la degradación de ME	94
6.3.9.	Digestión <i>in vitro</i>	96
6.3.10.	Actividad inhibitoria de ECA en microencapsulados	98
7.	CONCLUSIONES.....	100
8.	REFERENCIAS	101

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos bioactivos microencapsulados con almidón poroso obtenido enzimáticamente y características que presentan las microcápsulas formadas respecto a las condiciones ambientales	33
Tabla 2. Estudios de compuestos fenólicos encapsulados con resultados prometedores	37
Tabla 3. Procesos de encapsulación y materiales pared utilizados en la formación de microcápsulas con <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y principales actividades biológicas presentes..	39
Tabla 4. Diseño experimental Box-Behnken del optimizado de las condiciones de extracción de HS	46
Tabla 5. Variables independientes del DCCR para el optimizado en la microencapsulación de HS	53
Tabla 6. Valores de las variables de respuesta en el diseño experimental Box-Behnken para el optimizado del extracto HS.....	60
Tabla 7. ANOVA para el optimizado del extracto de <i>H. sabdariffa</i> L.....	61
Tabla 8. Caracterización antioxidante del extracto de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) obtenido en condiciones óptimas.....	68
Tabla 9. Parámetros de adsorción en almidones modificados enzimáticamente.....	76
Tabla 10. Parámetros de análisis de perfil térmico mediante DSC y de análisis de perfil de viscosidad mediante uso del RVA en almidones modificados enzimáticamente y nativos .	76
Tabla 11. Análisis de varianza del modelo polinómico cuadrático ajustado.....	79
Tabla 12. Diseño experimental de secado por aspersion de extracto de HS.....	80
Tabla 13. Caracterización física y química de microcápsulas obtenidas bajo condiciones óptimas	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de algunos antioxidantes presentes en Hibiscus sabdariffa: estructura básica de antocianina, quercetina y ácido gálico	17
Figura 2. Morfologías obtenidas de diferentes microencapsulados, de acuerdo con las características del material pared y del material protegido	22
Figura 3. Procesos de encapsulación en el área de los alimentos.....	23
Figura 4. Representación esquemática del mecanismo de secado por aspersión.	24
Figura 5. Materiales pared utilizados en la encapsulación de compuestos; proteínas, lípidos, carbohidratos y la mezcla de ellos.....	26
Figura 6. Representación de la hidrólisis enzimática para la obtención de almidón poroso y su aplicación como material portador de compuestos de interés.....	32
Figura 7. Representación de la liberación de las microcápsulas en condiciones gastrointestinales y protección ante factores ambientales	41
Figura 8. Diagrama experimental de la caracterización de extracto y de caracterización de almidón modificado.....	44
Figura 9. Diagrama experimental de la caracterización de la obtención y caracterización de las microcápsulas de EHS	45
Figura 10. Superficie de respuesta 3D de antocianinas monoméricas totales en función de la relación cáliz/ solvente y del tiempo de extracción.....	63
Figura 11. Superficie de respuesta 3D de concentración de fenoles totales y flavonoides totales.....	64
Figura 12. Superficie de respuesta 3D de actividad antirradical DPPH y ABTS.....	66
Figura 13. Micrografías por microscopía electrónica de barrido de almidón nativo e hidrolizados enzimáticamente 16 horas y 20 horas	72
Figura 14. Superficie de respuesta 3D de a_w en función de la temperatura de entrada y concentración de sólidos y de concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica	78
Figura 15. Superficie de respuesta 3D de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales, en función de la temperatura de entrada, la concentración de sólidos y la relación almidón: goma arábica.....	84
Figura 16. Superficie de respuesta 3D de antocianinas monoméricas totales en función de la	

temperatura de entrada y concentración de sólidos, de temperatura de entrada y relación almidón: goma arábica, y de concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica .	86
Figura 17. Superficie de respuesta 3D de actividad antirradical DPPH en función de la concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica.....	88
Figura 18. Superficie de respuesta 3D de eficiencia de encapsulación en función de la concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica.....	89
Figura 19. Superficie de respuesta 3D de retención de antocianinas en función de la temperatura de entrada y la concentración de sólidos.	90
Figura 20. Micrografía SEM de gránulos de almidón de maíz tratados con enzimas; microcápsulas optimizadas en la semana cero; microcápsulas optimizadas a las seis semanas en condiciones de envejecimiento acelerado; microcápsulas en la semana cero: 25% TSC, APM:GA 94:6, y microcápsulas en la semana cero: 16% TSC, APM:GA 94:6.	93
Figura 21. Estabilidad de almacenamiento de ME obtenida en condiciones óptimas a 55 °C, 52.86% HR.	95
Figura 22. Perfil de retención gastrointestinal <i>in vitro</i> de antocianinas en saliva (pH 6.8, 5 min), estómago (pH 3, 60 min) y condiciones intestinales (pH 8, 240 min).....	97
Figura 23. Actividad de la ECA en el EHS y en las microcápsulas optimizadas (MO) con y sin digestión <i>in vitro</i>	99

1. INTRODUCCIÓN

Roselle, también conocida como jamaica, es una planta perenne del género *Hibiscus*, perteneciente a la familia Malvacea, ampliamente cultivada en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Riaz & Chopra, 2018), incluidas Egipto, China, México y Sudán (Da-Costa-Rocha et al., 2014). En México se cosechan aproximadamente 18 mil hectáreas con un rendimiento promedio de 265 kg/ha por año (Ariza-Flores et al., 2014).

Los cálices de *H. sabdariffa* (HS) se ingieren en forma de bebidas, mermeladas, jaleas, jarabes, helados y otros postres (S. Patel, 2014). Aparte de la importancia en la industria de alimentos, el extracto HS presenta propiedades con actividades biológicas, que incluyen antioxidante, antihipertensiva, antidiabética, antibacteriana, entre otras (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). El extracto HS contiene compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides y antocianinas que imparten esta actividad biológica (Jabeur et al., 2017). Sin embargo, estos compuestos son propensos a la degradación debido al pH, temperatura, luz, oxígeno, interacción de iones metálicos y asociación con otros compuestos (Bicudo et al., 2015; Herrera-Balandrano et al., 2021). Otros factores que influyen en la viabilidad de los compuestos bioactivos son la extracción, procesamiento, almacenamiento (Soltanzadeh et al., 2022) y la bioaccesibilidad que es afectada por las condiciones fisiológicas en el tracto gastrointestinal durante la digestión (Peighambaroust et al., 2016).

La microencapsulación mediante secado por aspersión que aplica almidones como material pared está siendo utilizada para proteger compuestos bioactivos, siendo un método económico, flexible, y con alta eficiencia (Golshan et al., 2013; Rajabi et al., 2015; Shishir & Chen, 2017). Estudios realizados por Mehran et al. (2020) en donde encapsularon antocianinas del pétalo *Echium amoenum* utilizando almidón modificado de maíz y maltodextrina como material pared, reportaron que después de 30 días de almacenamiento a 40 °C, se cuantificó 85% de antocianinas del contenido inicial, en comparación con el extracto libre, que presentó 15%, debido a la degradación térmica y oxidativa. En otro estudio, Righi da Rosa et al. (2019) encapsularon compuestos bioactivos extraídos de arándano utilizando una mezcla de maltodextrina y almidón de maíz, observando una mejora en la liberación controlada de antocianinas en condiciones gastrointestinales *in vitro*, reportando una mayor disponibilidad respecto al incremento en el tiempo de hidrólisis, concluyendo que se mejora la protección

del extracto en condiciones gastrointestinales. Sin embargo, en el objetivo de mejorar e incrementar la capacidad de retención y protección de compuestos bioactivos, incursionar en el uso de almidones porosos está tomando gran importancia, ya que muestran una buena actividad como mejor acarreador de compuestos bioactivos (Sathyan & Nisha, 2022). Estudios enfocados en la obtención de almidones porosos por un método enzimático, han reportado una estructura porosa de almidón lo que incrementa el área superficial específica, y mejora la absorción e incrementa la eficacia de compuestos bioactivos (Ji, 2021). Han et al. (2023), reportaron el uso de almidón poroso de maíz (APM) y APM-modificado para la encapsulación de curcumina, en donde determinaron mediante espectroscopia por transformada de Fourier, que la curcumina fue encapsulada mediante enlaces de puentes hidrógeno con el almidón poroso. También reportaron, una mejor liberación controlada de la curcumina en un sistema gástrico intestinal, en los encapsulados de APM-modificados. Leyva-López et al. (2019) reportaron la microencapsulación de ácido ascórbico en APM, usando goma arábiga (GA), como sellador de los poros en el gránulo, observando una mayor estabilidad durante 9 semanas de almacenamiento en condiciones de envejecimiento acelerado a 55°C, y 52.86% HR, en comparación con microcápsulas a base de GA, usadas como control, las cuales solo mostraron una actividad hasta las 8 semanas. Oliyaei et al. (2020), usaron también APM para encapsular fucoxantina, en donde utilizaron diferentes combinaciones de GA y maltodextrina como cobertura en el APM cargado, reportando mejoras en la eficiencia de encapsulación, retención y en la estabilidad, aun bajo condiciones de luz y temperatura (50 °C) hasta las 4 semanas de almacenamiento. Por tal motivo, la encapsulación de compuestos bioactivos usando almidones porosos recubiertos con gomas puede ser una forma de proporcionar excelentes propiedades de protección y liberación controlada, impactado en la salud del consumidor. El objetivo principal del presente estudio es encontrar las condiciones óptimas del encapsulado de HS mediante un diseño central compuesto rotatable (DCCR), evaluando la temperatura de entrada en el secador, la concentración de sólidos solubles totales (CST) y la relación APM-GA, sobre eficiencia de encapsulación (EE), retención, liberación controlada de los compuestos antioxidantes presentes en el HS bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, así como evaluar la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) mediante un estudio *in vitro*.

2. MARCO TEÓRICO

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (Abbafati et al., 2020), de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) de más de 15 millones de muertes prematuras atribuidas a las ENT anualmente una proporción significativa de las ENT se ha atribuido a la creciente carga de enfermedades metabólicas; a saber, hipertensión, diabetes *mellitus* tipo 2, hiperlipidemia, obesidad y, más recientemente, enfermedad del hígado graso no alcohólico (Riazi et al., 2022; Xing et al., 2020). Estas enfermedades metabólicas son cada vez más frecuentes en la población más joven, ya que los estilos de vida modificables que implican el consumo de tabaco, el consumo excesivo de alcohol, el sedentarismo y las dietas poco saludables se establecen cada vez más en la edad adulta joven, preparando el escenario para el desarrollo de enfermedades metabólicas (Abbafati et al., 2020).

2.1. Hipertensión

La hipertensión no solo es un problema de salud pública mundial, sino también el factor de riesgo más importante para las enfermedades cardiovasculares, lo que representa una pesada carga económica para la sociedad. Una elevación de dos mm de Hg en la tensión arterial sistólica se asocia con un aumento de 7% con el riesgo de mortalidad por cardiopatía isquémica y 10% en el riesgo de mortalidad por accidente cerebrovascular, por lo que la hipertensión arterial (HTA) es considerada como un importante factor de riesgo de infarto al miocardio, ictus isquémico y hemorrágico, insuficiencia cardíaca, enfermedad renal crónica, deterioro cognitivo y muerte prematura (Orozco-Beltrán et al., 2022).

La epidemiología de la HTA se caracteriza por una alta incidencia, una alta tasa de discapacidad y de mortalidad y una baja tasa de concienciación (Mancia et al., 2023). A nivel mundial, se estima que la hipertensión causa 10.4 millones de muertes al año (Stanaway et al., 2018). De los 1,130 millones de personas estimadas con hipertensión, la mayoría (dos tercios) vive en países de ingresos bajos y medios, incluidos los de Latinoamérica (Stanaway et al., 2018). En los últimos veinte años, la hipertensión arterial se posiciona entre las primeras nueve causas de mortalidad en México, y en los pasados seis años la tasa de mortalidad por HTA incrementó 29.9%. En el año 2015, la hipertensión arterial se posicionó como el principal

factor de riesgo de muertes que se puede prevenir (Chen et al., 2021; Forouzanfar et al., 2016). Se estima que en México una de cada cuatro personas tiene este padecimiento, y 46% lo desconoce (OMS, 2022).

Como factor de riesgo más importante, el control de la presión arterial se ha considerado como un método esencial para prevenir la incidencia de enfermedades cardiovasculares. Actualmente, los fármacos disponibles para el tratamiento de la HTA incluyen principalmente inhibidores de la ECA, antagonistas de los receptores de angiotensina II, bloqueadores de los canales de calcio, bloqueadores β , diuréticos, etc. (Yang et al., 2023). Para los pacientes con mal control de la presión arterial, a menudo es necesario tomar una combinación de múltiples medicamentos antihipertensivos (Williams et al., 2018). A pesar del continuo desarrollo de fármacos antihipertensivos y la aparición de nuevos métodos quirúrgicos, el control de la hipertensión todavía está lejos de ser satisfactorio (Wang et al., 2018). Cómo aumentar la eficacia de los medicamentos anti-hipertensivos y retrasar la aparición de enfermedades cardiovasculares relacionadas con la hipertensión es un desafío importante en el presente e incluso en el futuro.

En los últimos años, el enfoque en la investigación de plantas se ha incrementado a nivel mundial para descubrir el inmenso potencial de las plantas medicinales utilizadas en varios sistemas tradicionales (Chrysant & Chrysant, 2017). Se han estudiado varias plantas medicinales que podrían usarse como potentes agentes fitoquímicos en el tratamiento terapéutico de diversas enfermedades; uno de ellos es *Hibiscus sabdariffa* (HS). Los estudios sobre las propiedades bioactivas de HS demostraron que tiene varios beneficios para la salud (Moyano et al., 2016; Riaz & Chopra, 2018) y podría atribuirse a la presencia de compuestos bioactivos. Compuestos bioactivos como los fenoles totales, flavonoides (quercetina, luteolina y sus glucósidos) y antocianinas como los componentes principales en el extracto acuoso HS (He et al., 2010).

2.2. *Hibiscus sabdariffa* L

Hibiscus sabdariffa (HS) se cultiva ampliamente en muchos países en desarrollo. Más de 300 especies se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Mahadevan & Kamboj, 2009). HS pertenece a la familia de las Malvaceae. Es una hierba anual o perenne

que alcanza una altura de 2 a 2.5 m. Las flores son terminales y mide de 8 a 10 cm de diámetro, de color blanco a amarillo pálido, y tienen un cáliz robusto y carnoso en la base, de 1 a 2 cm de ancho, que se agranda a 3-3.5 cm, carnoso y de color rojo brillante a medida que madura el fruto (Singh et al., 2006). Se cultiva al comienzo de la temporada de lluvias a mediados de abril y se recolecta para los cálices de los frutos, aproximadamente 3 semanas hasta el inicio de la floración (El Naim et al., 2010).

Tradicionalmente, HS se cultiva por su tallo, hojas, cálices y semillas, ya que todas sus partes tienen aplicaciones medicinales entre otras (Wright et al., 2007). Se han utilizado en la medicina tradicional. Entre ellos, se ha informado que el extracto HS ayuda a reducir la presión arterial (Da-Costa-Rocha et al., 2014)

2.2.1. Composición nutricional

Los cálices de HS son ricos en carbohidratos, fibra dietética, proteínas, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos (Aurelio et al., 2008). Algunos estudios reportaron valores de carbohidratos, proteínas y grasas ($26.93 \pm 0.71\%$), ($5.70 \pm 0.61\%$) y ($1.16 \pm 0.10\%$) respectivamente (Salami & Afolayan, 2021). Más recientemente, Jabeur et al. (2017) en su estudio, informaron la presencia de glucosa (6.5 g/100 g), fructosa y ácidos grasos. Los cálices de HS son ricos en vitaminas como niacina, riboflavina y ácido ascórbico (Aurelio et al., 2008). También se encuentran minerales especialmente, hierro, calcio, magnesio y potasio (Falade et al., 2005). Los extractos de cálices secos contienen componentes químicos, como ácidos orgánicos además de fitoesteroles y antioxidantes solubles en agua (Mahadevan & Kamboj, 2009). Los componentes bioactivos, tienen actividad captadora de radicales libres, y el efecto beneficioso en la salud se atribuye principalmente a estas moléculas bioactivas (Luvonga et al., 2012). Diversos estudios han revelado que los cálices de HS son ricos en polifenoles y flavonoides, que mejoran el valor nutritivo de HS, ya que estos compuestos se correlacionan con su propiedad antioxidante (Jabeur et al., 2017). El contenido fenólico consiste principalmente en antocianinas como delfinidin-3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido (Sinela et al., 2017) y otros flavonoides y sus respectivos glucósidos (Mahadevan & Kamboj, 2009). Las antocianinas son flavilio o catión 2-fenilbenzopirilio con grupo hidroxilo y metoxilo presente en la posición R1 y R2 de la estructura básica (Pascual-Teresa et al., 2010). Las moléculas de antocianinas son susceptibles de degradación. Su

estabilidad depende del pH, temperatura, enzimas, luz y estructura, la presencia de otros flavonoides, ácidos fenólicos y metales (Idham et al., 2012).

Según un estudio realizado por Sinela et al. (2017), han informado que el 85% de las antocianinas es delfinidina-3-sambubiósido y es la principal fuente de capacidad antioxidante del extracto de HS. Las diferentes técnicas de extracción de polifenoles y antocianinas y las diferentes variedades de HS utilizadas en diversos estudios dificultan la comparación Luvonga et al. (2012) informaron concentraciones de antioxidantes, el contenido fenólico total era de 6 mg/g en el extracto de HS. En otro estudio, Abou-Arab et al. (2011) reportaron contenido de antocianinas totales, como cianidina 3-glucósido de 623 mg/100 g y 37.4 mg/g de contenido fenólico total sobre la muestra en peso seco. Recientemente, Jabeur et al. (2017) en su estudio identificaron delfinidina-3-o-sambubiósido, delfinidina-3-o glucósido y cianidina-3-o sambubiósido en concentraciones de (7 mg/g), (1.5 mg/g) y (4.4 mg/g) respectivamente.

Informes de investigación destacaron los cálices secos como la fuente potencial de moléculas bioactivas (Figura 1) que ejercen una potente actividad antioxidante-antirradical (Formagio et al., 2015) y antihipertensiva (Ahad et al., 2020).

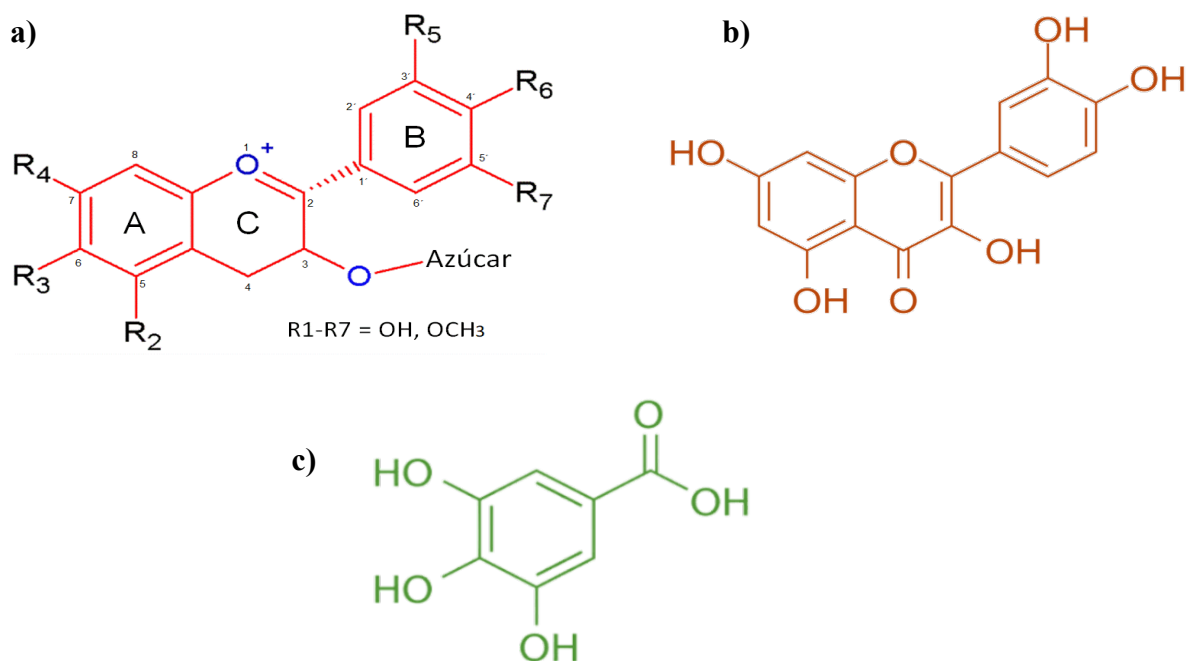


Figura 1. Estructura de algunos antioxidantes presentes en *Hibiscus sabdariffa*: estructura básica de antocianina (a), quercetina (b) y ácido gálico (c)

2.2.2. Actividad Antihipertensiva

Varios informes de investigación científica han proporcionado evidencia de que el extracto de HS reduce significativamente la presión arterial. Joven et al. (2014) comprobaron la eficacia del compuesto polifenólico de HS en el manejo de la HTA, en personas con síndrome metabólico y en ratas espontáneamente hipertensas. La dosis de 125 mg/kg/día se utilizó para personas con síndrome metabólico durante un período de 4 semanas y la dosis de 125 o 60 mg/kg en una dosis única o diaria durante 1 semana. Recientemente, Ali et al. (2017) evaluaron el efecto de las antocianinas aisladas del extracto acuoso de HS en una enfermedad renal crónica inducida por adenina en ratas *Wistar* macho, e informaron que una dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg de antocianinas disminuyó significativamente la presión arterial sistólica que aumentó significativamente debido al tratamiento con adenina. Además, las antocianinas (50 mg/kg) redujeron significativamente la frecuencia del pulso. Los estudios sobre el efecto antihipertensivo plantean que HS es comparativamente eficaz como otro fármaco antihipertensivo y es coadyuvante para disminuir la presión arterial (Walton et al., 2016)

Ajay et al. (2007) también informaron los mecanismos del efecto reductor de la presión arterial del extracto de HS en una aorta aislada de ratas espontáneamente hipertensas. Destacaron que el efecto vasodilatador del extracto de HS se debe probablemente a la activación de la vía relajante de óxido nítrico/monofosfato cíclico de guanosina derivado del endotelio y la vía independiente que implica la inhibición del flujo de iones calcio hacia las células del músculo liso vascular. En otro estudio realizado por Sarr et al. (2009) también informó que el extracto de HS estimula el efecto relajante dependiente del endotelio mediante la activación de la lípido-quinasa que conduce a la fosforilación de la óxido nítrico sintasa endotelial. Joven et al. (2014) informaron que los polifenoles de HS inducían respuestas endoteliales favorables y consideraron que ese mecanismo de acción fue más significativo era más importante junto con la actividad antioxidante y antiinflamatoria en comparación con la diuresis y la actividad inhibidora de la ECA.

2.2.2.1. Inhibición de ECA

Ojeda et al. (2010) demostraron por primera vez que el efecto antihipertensivo de los extractos de HS en humanos se debía a la ECA, proporcionando así una base científica para el uso del extracto de HS en la medicina popular para reducir la presión arterial. Walton et al. (2016) han recomendado los siguientes posibles mecanismos que ocurren en el sistema renina-angiotensina, involucrados en la regulación de la concentración de sodio plasmático y la presión arterial, probablemente como antagonistas de la aldosterona (diuréticos) e inhibidores de la ECA que son complementarios entre sí. La fracción rica en antocianinas (delfinidin-3-O-sambubiósidos y cianidin-3-O-sambubiósidos) inhibe la actividad enzimática compitiendo con el sitio activo de una manera dependiente de la dosis. La angiotensina I se convierte en angiotensina II por la enzima ECA. Esta angiotensina II es un vasoconstrictor y también estimula la secreción de aldosterona.

2.2.3. Toxicología

Algunos estudios preclínicos informaron del bajo grado de toxicidad aguda de HS. Akindahunsi & Olaleye (2003) han recomendado una dosis segura de 150-180 mg/kg/día y han demostrado que el uso prolongado de dosis más altas causa daño hepático, mientras que el efecto es leve en dosis más bajas. Sus resultados experimentales muestran que 15 dosis de 250 mg/kg de extracto de HS en las ratas albinas *Wistar* aumentaron significativamente el nivel sérico de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) y albúmina sérica.

Fakeye et al. (2009) en su estudio con ratas albinas usaron dosis altas (300-2000 mg/kg) de extracto HS durante 3 meses e informaron que el extracto acuoso aumentaba el nivel de creatinina sérica mientras que el alcohol al 50% tenía efectos más dañinos sobre la función hepática enzimática junto con el aumento de los niveles de creatinina plasmática.

Nwachukwu et al. (2015) han demostrado que una dosis de 2000 mg/kg aumenta la enzima hepática (AST, ALT y ALP) mientras que la urea, creatinina y ácido úrico aumentaron significativamente a 1000 mg/kg.

Recientes investigaciones han demostrado los beneficios para la salud del extracto HS, como los efectos antihipertensivos. Estos efectos se atribuyen a las propiedades antioxidantes de ciertos compuestos bioactivos, como ácidos fenólicos, antocianinas y flavonoides (Houngpè et al., 2019). Compuestos que son susceptibles a la degradación ante factores ambientales como la temperatura, luz y oxígeno (Antony & Farid, 2022). Es necesario mantener la estabilidad de los compuestos antioxidantes durante el procesamiento y el almacenamiento. La microencapsulación se ha convertido en un método viable para proteger estos compuestos bioactivos.

2.3. Microencapsulación

La microencapsulación se define como un proceso en el que pequeñas partículas se rodean con un recubrimiento, o se incrustan en una matriz homogénea o heterogénea, para obtener cápsulas selladas con propiedades útiles, que pueden liberar el ingrediente activo a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Gharsallaoui et al., 2007). Esto permite que el ingrediente activo, denominado material del núcleo, sea protegido de condiciones ambientales mediante el recubrimiento, que se denomina material pared (Vinceković et al., 2017). Para que el material del núcleo sea activo y útil, se deben considerar factores, incluida la estructura molecular, el punto de ebullición y de fusión, propiedades biológicas (actividad antimicrobiana y bioactividad), solubilidad, propiedades ópticas y estabilidad química (Paulo et al., 2017).

Esta tecnología, tiene como finalidad proteger el ingrediente encapsulado de la oxidación, calor, pH, humedad, entre otros factores; además de disminuir o impedir el contacto o interacción con otros ingredientes (Temiz et al., 2018). Entre las ventajas de la microencapsulación se encuentran: modificar las propiedades del compuesto a encapsular (tamaño de partícula, estructura, solubilidad), disminuir o evitar sabores u olores desagradables, evitar pérdidas nutricionales y mejorar el manejo de un ingrediente antes de su procesamiento (Kuang et al., 2010).

Es importante considerar la liberación controlada del compuesto encapsulado, bajo condiciones específicas. Puede llevarse a cabo mediante diferentes condiciones: hidratación, pH, cizallamiento, solubilización, calor, pH o acción enzimática (Flores et al., 2017). Además

de la liberación controlada, la EE no solo depende de la estructura y composición del material pared, sino también de las condiciones de almacenamiento y aplicación de las microcápsulas (humedad, a_w , pH, temperatura, presión, etc.) (Gharsallaoui et al., 2007).

2.3.1. Estructura de las microcápsulas

Una microcápsula oscila entre 1-5000 μm de tamaño, pequeñas partículas se recubren con un material polimérico para producir sistemas que se les conoce como microcápsulas (Corrêa-Filho et al., 2019).

En la elección del proceso de microencapsulación, se deben considerar varias propiedades físicas como la solubilidad y la capacidad del núcleo para estar rodeado por el material pared. El núcleo puede ser insoluble en el disolvente del material pared, pero no inmisible (Bruschi, 2015). En la microencapsulación mediante secado por aspersion, se puede recubrir un sólido soluble en agua con una solución de polímero soluble en agua, debido a la rápida evaporación del agua durante la formación de la micropartícula (Gharsallaoui et al., 2007). El núcleo puede ser un material cristalino, una partícula adsorbente, una emulsión o una suspensión (Corrêa-Filho et al., 2019).

Las características de los polímeros que se utilizan como materiales pared van a determinar el tamaño de las microcápsulas obtenidas, cuánto tiempo se puede liberar o retener el contenido del núcleo en una tasa predeterminada, como en aplicaciones de liberación controlada (Bruschi, 2015). Las características adhesivas se ven afectadas por la temperatura y la concentración, dependiendo de las propiedades físicas del material polimérico de la pared (punto de fusión, temperatura de transición vítrea, cristalinidad y velocidad de degradación) (Bruschi, 2015).

Al realizar la microencapsulación, se debe conocer la concentración óptima del ingrediente activo, el tamaño de las microcápsulas, así como el mecanismo de liberación, esto para seleccionar el material pared más adecuado (Augustin & Sanguansri, 2008).

Otro punto importante que considerar, son las propiedades fisicoquímicas del núcleo, la composición del material pared y el método de microencapsulación, y de ahí se pueden

obtener diferentes tipos de partículas. Las morfologías de las microcápsulas son: mononucleares, polinucleares, de matriz y de paredes múltiples o multifilm (Figura 2).

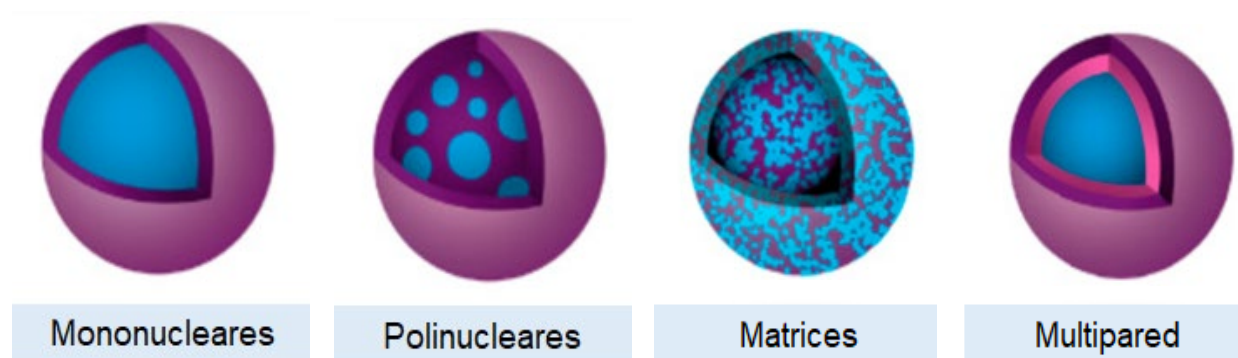


Figura 2. Morfologías obtenidas de diferentes microencapsulados, de acuerdo con las características del material pared y del material protegido (Jurkowska & Szczygieł, 2016)

2.3.2.

2.3.3. Métodos de encapsulación

Además de las morfologías producidas por el método de encapsulación utilizado, este proceso depende de las propiedades del núcleo y la cubierta a utilizar, del mecanismo de liberación, del tipo de proceso, así como del tamaño de partícula deseado, la biodegradabilidad y el costo del proceso (Madene et al., 2006). Aunque estas técnicas no son ni puramente físicas ni puramente químicas, se clasifican como métodos físicos y químicos según el principio predominante o primario involucrado (Vijeth et al., 2019).

El material portador no debe tener reactividad con el material del núcleo; baja viscosidad; dar la máxima protección del ingrediente activo contra los factores externos; asegurar buenas propiedades estabilizadoras en la emulsión formada y un comportamiento efectivo de redispersión para liberar los compuestos en los momentos y en el lugar deseados (Figura 3) (Madene et al., 2006).

Se han estudiado varios métodos para encapsular compuestos bioactivos, como el secado por aspersión, la coacervación, la liofilización, la electropulverización, la gelificación iónica y el recubrimiento en lecho fluidizado (Vijeth et al., 2019). De los métodos utilizados en el área

de los alimentos para microencapsular compuestos bioactivos, el secado por aspersión es la tecnología más comúnmente usada, debido a su bajo costo y disponibilidad.

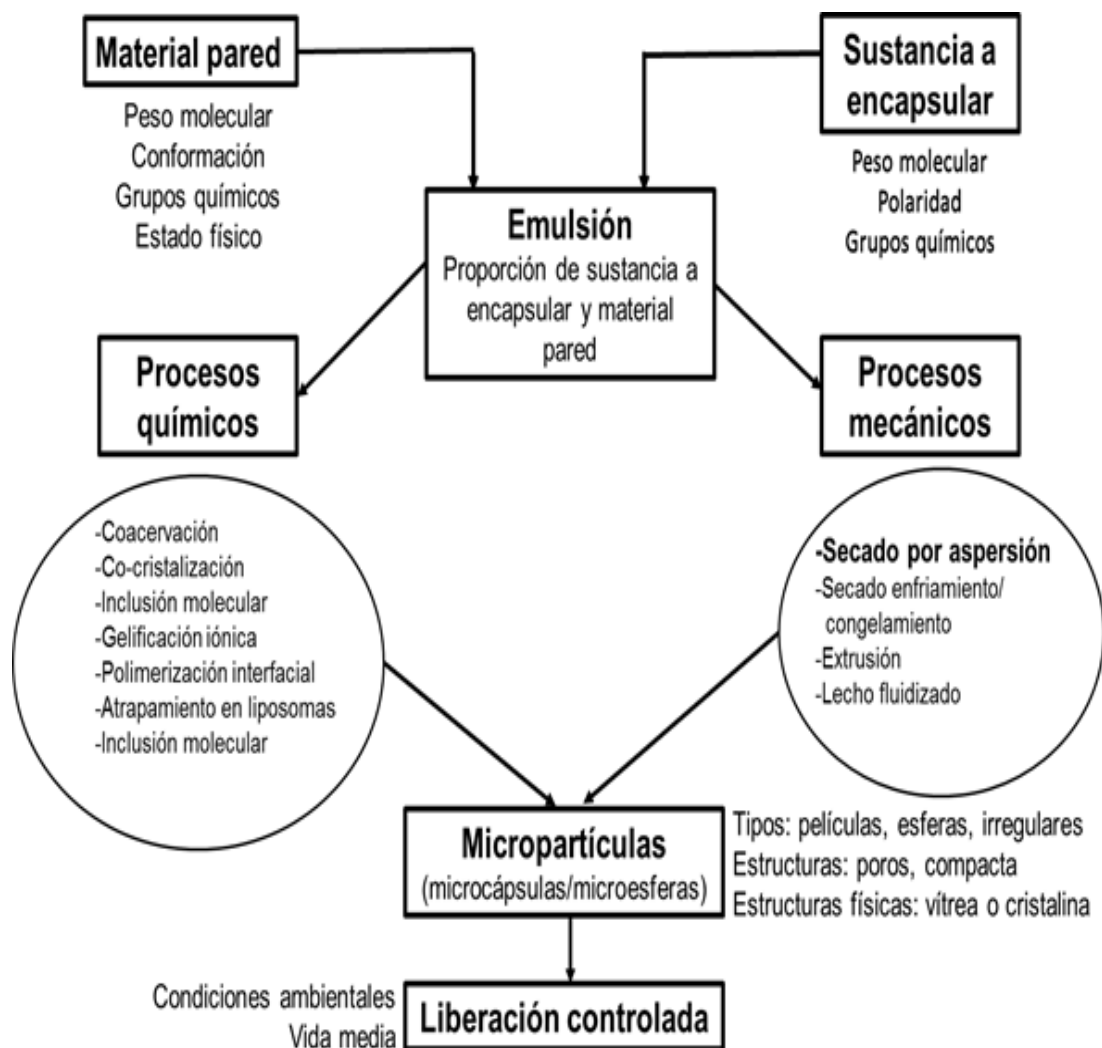


Figura 3. Procesos de encapsulación en el área de los alimentos (Madene et al., 2016)

2.3.3.1. Secado por aspersión

Es un proceso mediante el cual un producto líquido es aspersado en una corriente de gas caliente y como resultado se obtiene un polvo instantáneamente (Figura 4) (Gharsallaoui et al., 2007). Al disminuir el contenido y la actividad de agua, se asegura la estabilidad de productos, evitar el riesgo de degradaciones químicas y biológicas, facilita el transporte y almacenamiento y finalmente para obtener un producto con propiedades específicas como

solubilidad (Encina et al., 2016; Pellicer et al., 2018).

La calidad de los polvos depende de las características de la solución alimentada, el aire de secado, contacto entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado, así como el tipo de atomizador utilizado (Ferrari et al., 2012). Se considera una microencapsulación eficiente cuando se alcanza una máxima cantidad del núcleo dentro de las partículas de polvo, una buena estabilidad, y una extensión de la vida útil del producto (Medina-Torres et al., 2013). La conveniencia del uso de esta técnica radica en los tiempos cortos, un parámetro crucial para aquellos productos sensibles al calor, debido a que promueve una alta retención de sabor, olor y nutrientes (Ferrari et al., 2012).

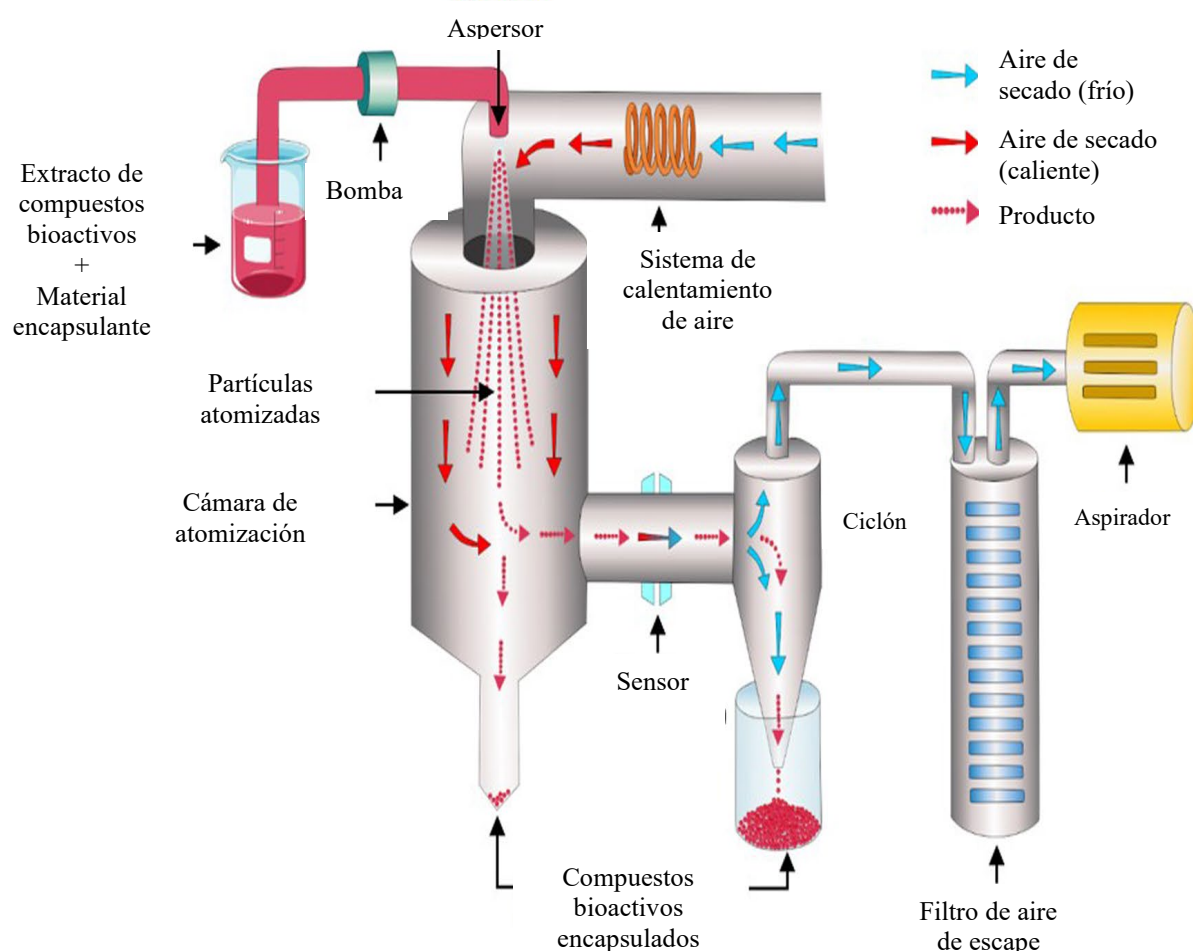


Figura 4. Representación esquemática del mecanismo de secado por aspersión. Adaptado de Fernández-Quiroz, 2023

Durante el secado por aspersión se pueden distinguir las siguientes etapas:

- a. Aspersión.** Crear la máxima superficie de transferencia de calor entre el aire seco y la solución para optimizar la transferencia de masa y calor.
- b. Contacto de gota-aire caliente.** El atomizador comparado con el aspersor de aire caliente se puede distinguir en sentido de la corriente (paralela) y en contracorriente.
- c. Evaporación de agua.** La transferencia de calor se lleva a cabo del aire hacia el producto resultado de la diferencia de temperatura, mientras que la transferencia de agua se lleva a cabo en sentido opuesto debido a la diferencia de la presión de vapor.
- d. Separación del producto seco y aire húmedo.** Se hace a través de un ciclón colocado fuera de la cámara de secado, lo cual reduce las pérdidas del producto a la atmósfera (Gharsallaoui et al., 2007).

2.3.4. Materiales encapsulantes

Los materiales pared que se han utilizado para el secado por aspersión son polisacáridos como almidones nativos y modificados, gomas, ciclodextrinas y maltodextrinas, proteínas como proteínas de suero, caseinato de sodio, proteínas de soja y otros, incluidos gelatina, goma gelana y quitosano. Un buen conocimiento de las interacciones fisicoquímicas que ocurren entre los compuestos encapsulados y las principales biomoléculas utilizadas como material pared es necesario para conocer las propiedades finales de las microcápsulas (Figura 5) (Bakowska-Barczak et al., 2011; Suganya & Anuradha, 2017). Esta tecnología es aplicable en varios ingredientes alimentarios que incluyen sabores, colores, vitaminas, minerales, grasas, aceites y extractos con alta concentración de compuestos bioactivos; para prolongar la estabilidad de la vida útil frente a las condiciones ambientales (Drosou et al., 2017; Kandasamy & Naveen, 2022; Mudalip et al., 2021).

Muchos revestimientos son en realidad formulaciones compuestas de cualquiera o todas las anteriores. La elección de los materiales pared depende de una serie de factores que incluyen: objetivos y requisitos esperados del producto; naturaleza del núcleo; el proceso de encapsulación; y si el material de recubrimiento está aprobado en el marco de la FDA o por

la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (Drosou et al., 2017).

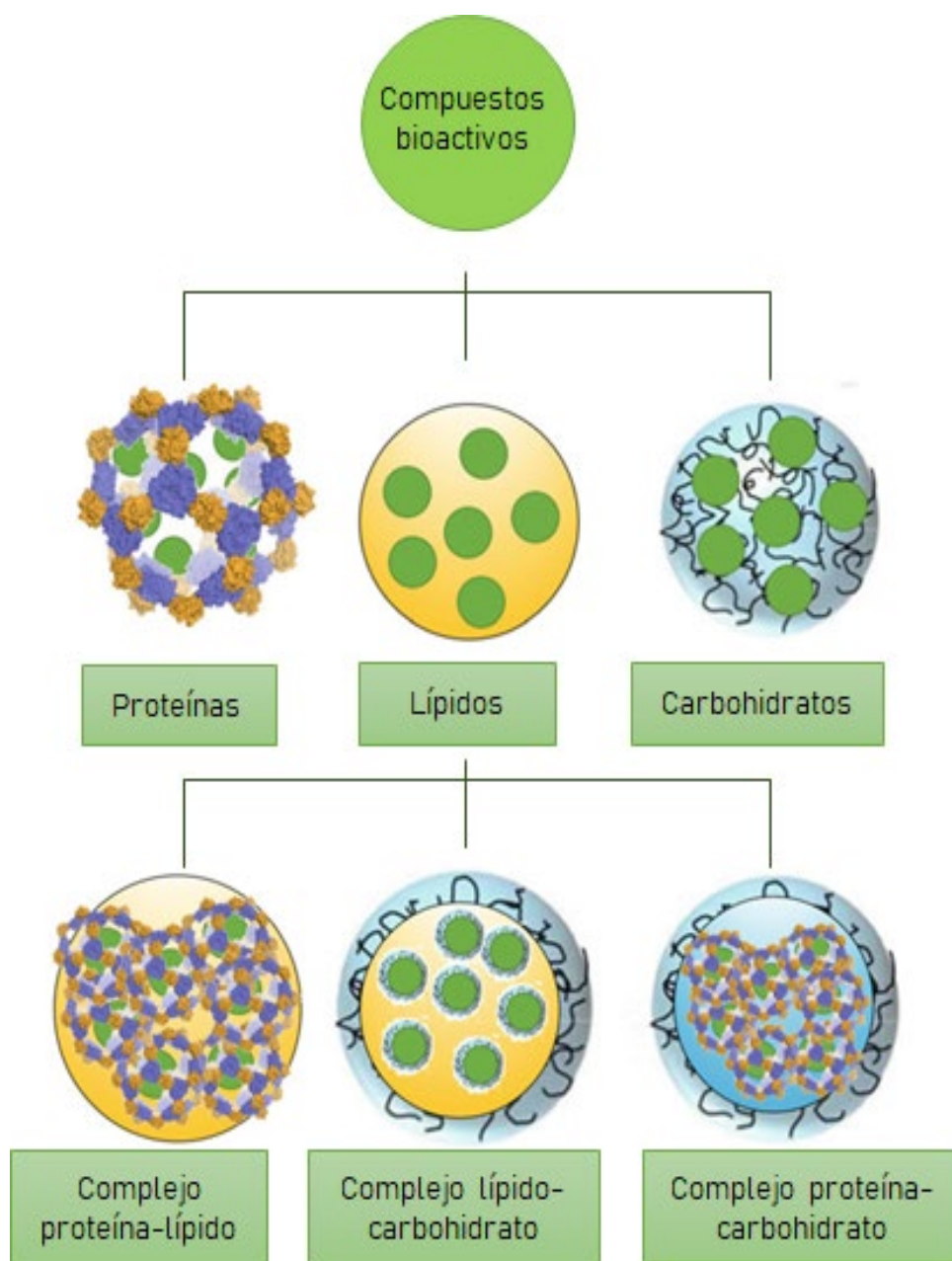


Figura 5. Materiales pared utilizados en la encapsulación de compuestos; proteínas, lípidos, carbohidratos y la mezcla de ellos (Ruiz Canizales et al., 2019)

La composición del material pared es el principal determinante de las propiedades funcionales de las microcápsulas. Un material pared de buena calidad debe presentar las siguientes características (Wandrey et al., 2010):

- Buenas propiedades reológicas a altas concentraciones.
- Dispersar o emulsionar el material activo y estabilizar la emulsión producida.
- No debe existir reactividad con el núcleo.
- Sellar y mantener el material activo dentro de su estructura.
- Liberar completamente el solvente u otros materiales usados en el proceso.
- Dar máxima protección al núcleo contra las condiciones ambientales.
- Solubilidad en solventes aceptables en la industria alimentaria.
- Económicas y de calidad alimentaria.

2.3.4.1. Encapsulación con polisacáridos

Los polisacáridos son la principal matriz polimérica utilizada; se obtienen de diversas fuentes y son biodegradables, biocompatibles y no tóxicos (Gavory et al., 2012). Algunos de los más utilizados son maltodextrina, pectina, quitosano, alginato, gomas y almidones (Ruiz Canizales et al., 2019).

Los polisacáridos presentan ventajas entre las que están su buena solubilidad en agua y su baja viscosidad a diferentes concentraciones, en comparación con las proteínas (Nesterenko et al., 2014). A menudo, los carbohidratos se mezclan con proteínas para mejorar las propiedades emulsionantes y filmogénicas durante la microencapsulación (Mendanha et al., 2009). Además, los complejos proteína-carbohidrato reticulados covalentemente han mostrado propiedades funcionales interesantes (Augustin & Sanguansri, 2008). De igual manera, la goma arábica (GA) presenta propiedades asociadas a su capacidad de formación de película que van a favorecer su uso, presenta baja viscosidad, es hidrosoluble, y ha demostrado retener componentes volátiles, además de sus propiedades emulsionantes, siendo su principal desventaja su disponibilidad limitada (Madene et al., 2006).

Debido a que ningún material de revestimiento individual puede cumplir todos los criterios enumerados anteriormente, en la práctica se emplean materiales de revestimiento en mezclas.

Sin embargo, también se consideran modificaciones de los materiales pared para potenciar sus propiedades. Estos materiales modificados exhiben mejores propiedades físicas y mecánicas (Poshadri & Aparna Kuna, 2010).

Almidón

El almidón es el principal carbohidrato de reserva en plantas y es uno de los biopolímeros más utilizados en diversas aplicaciones (Wang & White, 1994). Los gránulos de almidón son diferentes entre las diversas especies botánicas. Estas diferencias se ven reflejadas en la morfología del gránulo (forma y tamaño), grado de cristalinidad, relación amilosa-amilopectina y en la estructura de la amilopectina (Do et al., 2019). Por ejemplo, se ha observado que los gránulos del almidón de papa presentan forma ovalada, en el caso del maíz son poliédricos y esféricos (Tester et al., 2004), mientras que otros cereales como el arroz, cuyo tamaño de gránulo es pequeño, se caracteriza por presentar formas irregulares (Jane et al., 1994). En cuanto a tamaño, en maíz se ha reportado entre 3-20 μm , y en arroz entre 2-7 μm (Tester et al., 2004). Esta diversidad de formas, tamaños y constituyentes moleculares influyen sobre la funcionalidad del almidón (Do et al., 2019).

Amilosa. Polisacárido lineal compuesto por unidades de glucosa unidas mediante enlaces de tipo α (1-4), y pueden estar presentes algunos enlaces α (1-6). Insoluble en agua, pero tiene la capacidad de interactuar con moléculas mediante puentes de hidrógeno resultando en micelas hidratadas y desarrollar una estructura helicoidal formando un complejo con el yodo (color azul) (Knutson & Grove, 1994). La configuración más estable de la amilosa en solución a temperatura ambiente es en forma helicoidal, lo cual explica muchas de sus propiedades fisicoquímicas y funcionales. En general, esta molécula se encuentra en una proporción de 20%-35% para almidones normales (Tester et al., 2004).

Amilopectina. Polisacárido altamente ramificado de unidades de glucosa unidas principalmente por enlaces α (1-4) y con uniones resultantes α (1-6). Dichas ramificaciones se localizan a cada 15-25 unidades de glucosa. Parcialmente soluble en agua caliente y en presencia de yodo produce un color rojizo violeta (Guan & Hanna, 2004). French (1972) propuso el modelo de “racimo” (cluster) para describir la forma en que se encuentra esta molécula. Las cadenas se organizan en dobles hélices. Las áreas inter-cristalinas (amorf)

contienen mayor cantidad de enlaces α -(1-6), siendo relativamente susceptibles a agentes hidrolíticos (ácidos y enzimas). La amilopectina es quizás el componente que tiene mayor importancia en función de las propiedades del almidón, dado que su estructura y propiedades contribuyen notablemente en la composición y funcionalidad del gránulo, por lo que esta molécula ha sido estudiada ampliamente en función de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas internas y externas (Bello-Perez et al., 1996).

2.3.5. Aplicación de almidón como material pared

Como se señaló anteriormente, la composición química del almidón va a dar las características funcionales para aplicarlo en la industria alimentaria. Uno de sus usos potenciales es en la microencapsulación, ha proporcionado estabilización, liberación controlada y vida útil prolongada de compuestos (Hoyos-Leyva et al., 2017).

El almidón nativo se usa comúnmente en microencapsulación mediante secado por aspersión. Por ejemplo, se ha demostrado que un área de superficie elevada induce una alta adhesión de *Bifidobacterium* (Crittenden et al., 2001). Los resultados han indicado que, los efectos conformacionales podrían estar involucrados en la adhesión de *Bifidobacterium* en superficies lisas y rugosas.

Tari et al. (2003) produjeron agregados de almidón a partir de almidones granulares pequeños para la encapsulación de vainillina mediante secado por aspersión, utilizando almidones de amaranto, arroz, quinua y taro como modelo. La vainillina se encontraba dentro de los agregados y en la superficie. Concluyeron que los agregados de almidón de amaranto que contenían amilosa añadida eran porosos y la porosidad aumentaba con el nivel de amilosa.

Se ha explorado el almidón con altos niveles de cristalinidad como matriz de encapsulación. La disposición cristalina natural de almidón nativo de papa se utilizó para la encapsulación de diferentes materiales, como ibuprofeno, curcumina, timol y ácido ascórbico (Janaswamy, 2014).

Algunos estudios han informado que los almidones con tamaño de gránulo pequeño son agentes de encapsulación efectivos (Palma-Rodríguez et al., 2018; Rosales-Chimal et al., 2023). Otros estudios han informado que tiene un mayor efecto protector sobre los compuestos

químicos encapsulados (Hoyos-Leyva et al., 2018; Zhao & Whistler, 1994). Esta mejora en el efecto protector y podría explicarse por la mayor tendencia del almidón granulado pequeño a formar agregados esféricos. Además, se han encapsulado catequinas en almidones de fuentes no convencionales (castaño de indias, castaño de agua y tallo de loto) (Ahmad et al., 2019) y *Lactobacillus paracasei subs paracasei* (malanga) (Alfaro-Galarza et al., 2020).

2.3.6. Modificaciones para obtención de almidones porosos

Algunas de las propiedades de los almidones nativos (solubilidad, viscosidad, etc.) pueden limitar su aplicación en la microencapsulación. Sin embargo, dichas propiedades, fisicoquímicas y funcionales, pueden mejorarse (Hoyos-Leyva et al., 2017). Mediante la hidrólisis se puede disminuir el peso molecular y el tamaño de las moléculas, y así la viscosidad de las dispersiones preparadas, lo que favorece para su posterior aplicación, presenta alta estabilidad a cambios de pH y temperatura e incrementa su digestibilidad en el tracto intestinal humano (dos Santos Alves et al., 2024; Uthumporn et al., 2013).

La preparación de almidón poroso puede llevarse a cabo mediante métodos enzimáticos, químicos, físicos o una combinación de ellos. Aunque la hidrólisis enzimática por sí sola es capaz de producir almidón poroso, su eficiencia puede mejorarse aún más cuando se combina con tratamientos físicos (por ejemplo, ultrasonido, microondas, tratamiento térmico, alta presión hidrostática) o químicos (por ejemplo, esterificación, reticulación, eterificación) (Leyva-López et al., 2024). La producción exitosa de almidón poroso no depende únicamente del tipo de tratamientos, ya que factores adicionales afectan la producción, como el origen, el tipo y concentración de enzima, las condiciones de hidrólisis como la temperatura, pH y tiempo (Benavent-Gil & Rosell, 2017; Wang et al., 2016).

2.3.6.1. Métodos enzimáticos

Recientemente, la hidrólisis enzimática se ha utilizado ampliamente para obtener almidón poroso debido a las condiciones suaves de reacción, alta eficiencia por el efecto catalítico y especificidad del sustrato (Ye et al., 2018). La estructura porosa va a depender del tipo de almidón y la selección del método de modificación. Al hacer la elección del método de modificación, así como las condiciones de hidrólisis (agitación, pH, temperatura, tiempo) y el

tipo de almidón, se puede obtener la morfología deseada del almidón poroso y utilizarlo en diversas aplicaciones en el área de los alimentos (Hj et al., 2021).

El tratamiento enzimático suave y controlado, no cambia la forma de los gránulos del almidón y va a actuar para producir poros dependiendo de la concentración y el tipo de enzima o enzimas utilizadas (Jung et al., 2017). Las enzimas amilolíticas actúan para la producción de poros. Se presentan diversos patrones de formación de almidones modificados enzimáticamente: poros, erosión esponjosa, numerosos orificios de tamaño mediano, lugares distintos que conducen a orificios individuales en gránulos individuales y erosión de la superficie (Chang et al., 2011; Xie et al., 2019). Las enzimas que comúnmente se utilizan para la obtención del almidón poroso son la α -amilasa, amilogucosidasa, β -amilasa y ciclodextrina glucosiltransferasa. Estas enzimas se pueden clasificar según el sitio y la hidrólisis de enlace donde actúa (Jung et al., 2017; Miao et al., 2015). Los almidones modificados enzimáticamente atraen mucho la atención debido a su gran capacidad de adsorción por los poros formados (Zhang et al., 2012). De hecho, existe un creciente interés en explotar sus propiedades en diferentes áreas de alimentos y no alimentos.

2.3.7. Aplicación de los almidones porosos obtenidos enzimáticamente

En la industria alimentaria, los almidones porosos obtenidos mediante hidrólisis enzimática actúan como excelentes adsorbentes naturales, contienen abundantes poros desde la superficie hasta el centro de los gránulos, dando como resultado una mayor superficie específica (Figura 6) (Purwitasari et al., 2023). Se han utilizado como colorantes, especias, aromatizantes, edulcorantes y también para la protección de elementos sensibles tales como aceites, minerales, vitaminas, lípidos bioactivos, pigmentos alimenticios sensibles a la luz tales como β -caroteno y licopeno sensibles a la luz, oxidación o temperatura elevada, entre otros (Tabla 1) (Belingheri et al., 2015; Jain et al., 2020; Zhang & Wang, 2023).

Zhang et al. (2012) caracterizaron y estudiaron las propiedades de adsorción de almidón de maíz modificado enzimáticamente con violeta de metilo, la relación máxima de adsorción entre estos compuestos fue de 38.1%. Luo et al. (2013) reportaron que con un grado de hidrólisis enzimática del 60% de almidón, se logra complejar hasta 100 mg de zinc/g de almidón de yuca. Li et al. (2016) encapsularon *Lactobacillus Plantarum* presentando mayor

resistencia en condiciones ácidas y biliares en comparación con el almidón nativo.

El almidón poroso se puede utilizar junto a otros polisacáridos, para funcionalizar sus propiedades; por ejemplo, con goma arábiga en la protección de vitamina C (Leyva-López et al., 2019), de retinol (Ribeiro et al., 2020), y con goma xantana para protección y liberación controlada de la curcumina (Wu et al., 2021).

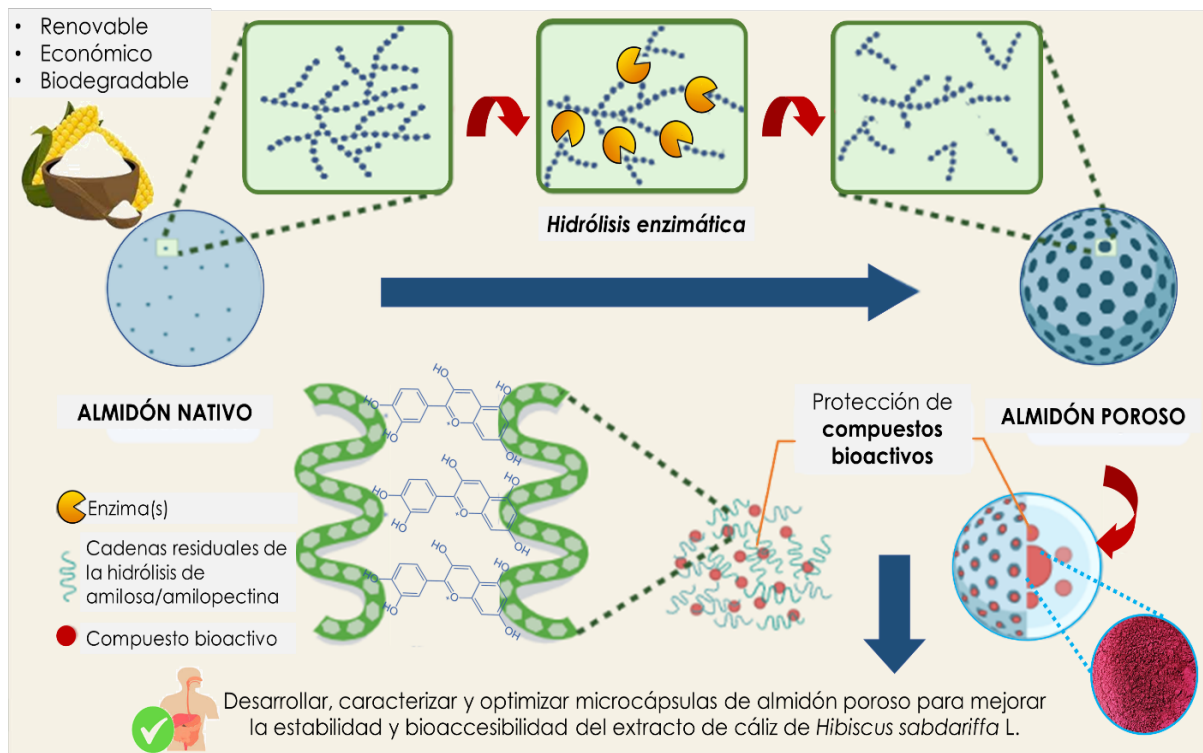


Figura 6. Representación de la hidrólisis enzimática para la obtención de almidón poroso y su aplicación como material portador de compuestos de interés. Obtenido de <https://app.biorender.com/biorender-templates>

1 **Tabla 1.** Compuestos bioactivos microencapsulados con almidón poroso obtenido enzimáticamente y características que presentan
 2 las microcápsulas formadas respecto a las condiciones ambientales

Núcleo	Material pared (almidón)	Método de encapsulación	Características presentes	Referencias
Curcumina	Papa	Enfriamiento por aspersión	Mayor solubilidad de la curcumina en agua y su estabilidad a radiación UV en diferentes condiciones de pH	(Park et al., 2019)
Licopeno	Arroz	Emulsificación y extrusión	Aumentó la estabilidad del licopeno durante el almacenamiento, pero redujo su biodisponibilidad	(Jain et al., 2020)
Ácido oleico	Maíz	Secado por aspersión	Mejóro la cinética de oxidación del aceite expuesto al calor y luz. Redujo el efecto de la exposición a la luz sobre la oxidación	(Belingheri et al., 2015)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Maíz	Adsorción, congelación y liofilización	<i>Lactobacillus plantarum</i> se adsorbe en los poros y es más estable térmicamente, sobrevivieron después de 35 min a 55 °C	(Benavent-Gil et al., 2018)
Agua y aceite	Maíz	Adsorción	Con amiloglucosidasa se tuvo mayor absorción de agua, pero menor absorción de aceite. Los canales de poros son más estrechos y la viscosidad del aceite era más alta	(Han et al., 2021)
Polifenoles	Maíz	Adsorción	Mayor retención y mejor estabilidad durante el almacenamiento. Diámetro de poros disminuyó después de la adsorción, polifenoles se difundieron hacia los poros. Ayuda contra oxidación	(Hu & Du, 2019)

Melatonina	Maíz	Agitación, emulsión y concentración	Se cargó principalmente en los poros. El contenido de melatonina en almidón poroso no presentó cambios significativos de 0 a 12 meses de almacenamiento. Mayor inhibición de radicales peroxilo	(Li et al., 2018)
Fucoxantina	Maíz	Secador de vacío	Retención mejorada de fucoxantina a diferentes condiciones (luminosidad, oscuridad, 4 °C y 50 °C) durante 4 semanas, disminuyó de 84.5% a 57.7%	(Oliyaei et al., 2020)
Aceite de oliva	Papa morada	Secado por aspersion	Permite una relación de carga estable y mejora la estabilidad oxidativa del aceite microencapsulado	(Lei et al., 2018)
Curcumina	Arroz	Liofilización	El almidón poroso de arroz y goma xantana permiten una liberación lenta en el intestino. Goma no se vio afectada fácilmente por las enzimas, controlando la liberación	(Wu et al., 2021)
Ácido ascórbico	Maíz	Secado por aspersion	Almidones porosos con goma arábica presentaron mayor estabilidad en un estudio de envejecimiento acelerado (55 °C y 52.86% HR) en comparación con microencapsulados con almidones de gránulo pequeño. Mejores propiedades protectoras durante digestión <i>in vitro</i>	(Leyva-López et al., 2019)

4 **2.3.8. Compuestos microencapsulados**

5 La adición de compuestos bioactivos a los productos alimenticios ha aumentado en las últimas
6 décadas, ya que los estudios confirman su asociación con beneficios para la salud. También se
7 ha demostrado que varios compuestos bioactivos pueden ser inestables en diversas condiciones
8 ambientales y de procesamiento, lo que limita su aplicación (Yang et al., 2024). Se han realizado
9 trabajos para facilitar su incorporación, como la encapsulación, es una tecnología que mejora la
10 vida útil y enmascara el sabor, olor y color indeseables (Xu et al., 2024).

11 Diferentes técnicas de encapsulación pueden proteger compuestos específicos, como compuestos
12 fenólicos (Zhang et al., 2023), carotenoides (Jain et al., 2020), fitoesteroles (Sharifi et al., 2021)
13 y probióticos (Alfaro-Galarza et al., 2020; Benavent-Gil et al., 2018). Una selección adecuada
14 del método para encapsular depende del compuesto activo a proteger, ya que la formación y las
15 propiedades de la mayoría de los sistemas de encapsulación dependen en gran medida de las
16 interacciones entre el portador y el núcleo (Rios-Aguirre & Gil-Garzón, 2021).

17 De los compuestos bioactivos empleados, los de origen natural han ido en aumento, ya que tales
18 compuestos pueden jugar papeles favorables en la salud humana, ya que los fármacos pueden
19 presentar efectos secundarios (Shishir et al., 2018). Sin embargo, la mayoría de los compuestos
20 bioactivos son sensibles a diferentes factores: oxígeno, luz, radiación UV, humedad y altas
21 temperaturas, lo que resulta en una pérdida de funcionalidad biológica (Rehman et al., 2019).

22 Por lo tanto, el desarrollo de métodos para mejorar la estabilidad y prolongar la vida útil es
23 necesario para la industria alimentaria (Reineccius, 2019). Estudios han confirmado la necesidad
24 de encapsulación de compuestos bioactivos; entre los que se encuentran principalmente,
25 antioxidantes y extractos acuosos naturales con alguna actividad biológica.

26 **2.3.8.1. Encapsulación de compuestos fenólicos**

27 Los compuestos fenólicos forman parte importante de los ingredientes bioactivos naturales
28 debido a sus diversas actividades biológicas. Sin embargo, están restringidos hasta cierto punto
29 por la baja solubilidad, inestabilidad, sabor desagradable y baja biodisponibilidad (Lu et al.,
30 2021). Son una parte importante de los compuestos bioactivos naturales. Influyen en la calidad,

31 aceptabilidad y estabilidad de los alimentos (Esfanjani et al., 2016; Rezaei et al., 2019). Se ha
32 reportado que poseen un alto espectro de actividades biológicas, incluyen funciones
33 antioxidantes y antihipertensivas (Daza et al., 2017; Murador et al., 2018; Ribas-Agustí et al.,
34 2018). Algunas investigaciones han planteado procesos para la protección de los compuestos
35 fenólicos con resultados prometedores (Tabla 2). Se pueden encontrar en un gran grupo de
36 fuentes vegetales, incluidas legumbres, frutas, verduras, cereales, semillas oleaginosas, aceites
37 vegetales (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

38 Moreno et al. (2018) han evaluado tres encapsulantes que incluyen maltodextrina, aislado de
39 proteína de suero; aislado de proteína de guisante para producir micropartículas de extracto de
40 orujo de uva (*Vitis vinifera*), rico en fenólicos y antocianinas. Los resultados mostraron que todos
41 los materiales pared pudieron mantener los compuestos fenólicos durante un almacenamiento de
42 6 meses a 25 °C. Por otro lado, Robert et al. (2010) encontraron que el aislado de proteína de
43 soya y la maltodextrina, respectivamente, tenían una mejor EE para los polifenoles y antocianinas
44 del jugo de granada a 60 °C durante 56 días.

45 **Tabla 2.** Estudios de compuestos fenólicos encapsulados con resultados prometedores

Compuesto bioactivo	Fuente	Materiales pared	Resultados principales	Referencias
Antocianinas	Vino tinto	Maltodextrina (MD)	Retención de antocianinas > 83%	(Alvarez Gaona et al., 2017)
	Manzana roja	MD y goma arábiga (GA)	EE: 93.8%-96.8%	(Xue et al., 2019)
	Arroz negro	MD, GA, aislado de proteína de suero	MD exhibió la mayor retención (88%), aislado de proteína de suero exhibió mayor actividad antioxidante	(Norkaew et al., 2019)
Ácido gálico	Cacao	Liposoma /quitosano	EE aumentó (87.5%) en comparación con liposomas sin encapsulación (73.6%)	(Altin et al., 2018)
Catequinas	Té verde	MD, β-ciclodextrina (CD), mezcla MD/CD	MD mayor EE (69%), mientras que MD/CD tuvo mayor actividad antioxidante	(Pasrija et al., 2015)
Resveratrol	Maní	MD, Concentrado de proteína de suero	Concentrado de proteína de suero: retención (89%) y mayor estabilidad	(Lee et al., 2015)
	Cacao	Quitosano	Biodisponibilidad 10 > antes de la encapsulación	(Peñalva et al., 2018)
Curcumina	Rizoma / cúrcuma	Quitosano + Tween 20	Aumento de 12.7 veces de la solubilidad y liberación en 2 horas	(O'Toole et al., 2012)

47 **2.3.8.2. Encapsulación de extracto *Hibiscus sabdariffa* L.**

48 Los cálices de *HS* destacan por su alto contenido en compuestos fenólicos tales como
49 antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos (ácido hibiscus, ácido clorogénico, ácido
50 protocatéquico) (Navidad-Murrieta et al., 2020; Riaz & Chopra, 2018). Las antocianinas son
51 compuestos químicos pertenecientes a los flavonoides; son pigmentos hidrosolubles
52 responsables por una variedad de colores que reflejan desde el rojo vivo al violeta o azul (Wallace
53 & Giusti, 2019).

54 En los últimos años ha crecido el interés por el estudio de compuestos fenólicos, debido a las
55 propiedades bioactivas que presentan (Riaz & Chopra, 2018; Smeriglio et al., 2016). Las
56 antocianinas son compuestos inestables y muy sensibles a factores externos como oxígeno,
57 temperatura, pH y luz, por lo que requiere una protección, para evitar su degradación (Sotomayor
58 & Vargas, 2017). El secado por aspersion es una alternativa útil para proteger dichos compuestos,
59 cerca del 85% de la encapsulación de antocianinas se ha utilizado mediante esta técnica (Mahdavi
60 et al., 2014).

61 La microencapsulación de extractos de *H. sabdariffa* mediante diferentes métodos ha sido
62 estudiada (Tabla 3). Se evalúa la influencia de factores tales como temperatura, concentraciones
63 y materiales pared (goma xantana, maltodextrina, goma arábica, maltodextrina: goma arábica;
64 almidón: alginato y almidón de diferentes fuentes botánicas), sobre las propiedades
65 fisicoquímicas y biológicas de las microcápsulas. Una vez obtenidas las microcápsulas en los
66 estudios mostrados han evaluado actividad antimicrobiana y/o actividad antioxidante.

67 **Tabla 3.** Procesos de encapsulación y materiales pared utilizados en la formación de microcápsulas con *Hibiscus sabdariffa* L. y
 68 principales actividades biológicas presentes

Material pared	Proceso de encapsulación	Resultados principales	Referencias
Aislado de proteína de suero/polidextrosa	Secado por aspersión y liofilización	Actividad antioxidante ABTS, DPPH y HRSA (74%-90%). Alta solubilidad y estabilidad térmica	(Cassol et al., 2021)
GA/MD	Secado por aspersión	GA60/MD40: mayor contenido de fenoles totales y antocianinas; GA40/MD60 mayor capacidad antioxidante	(Campo-Fernández et al., 2021)
Maltodextrina DE 10	Secado por aspersión	Pigmentos naturales que mejoran el crecimiento y pigmentación de peces	(Vanegas-Espinoza et al., 2019)
Carragenina	Liofilización	Hasta 86% de EE	(Sumarni et al., 2019)
Gelatina	Gelificación iónica por goteo - extrusión y aspersión	Estabilidad térmica. Caramelos con micropartículas mostraron una retención de antocianinas del 73% después de 2 meses de almacenamiento	(de Moura et al., 2019)
Goma de mezquite	Secado por aspersión	Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y antocianinas de 3.4 ± 0.2 g EAG/100 g, 9.3 ± 1.4 g ET/100 g y 319 ± 20 mg de EC3G/100 g	(Ochoa-Velasco et al., 2017)

69

70 3. JUSTIFICACIÓN

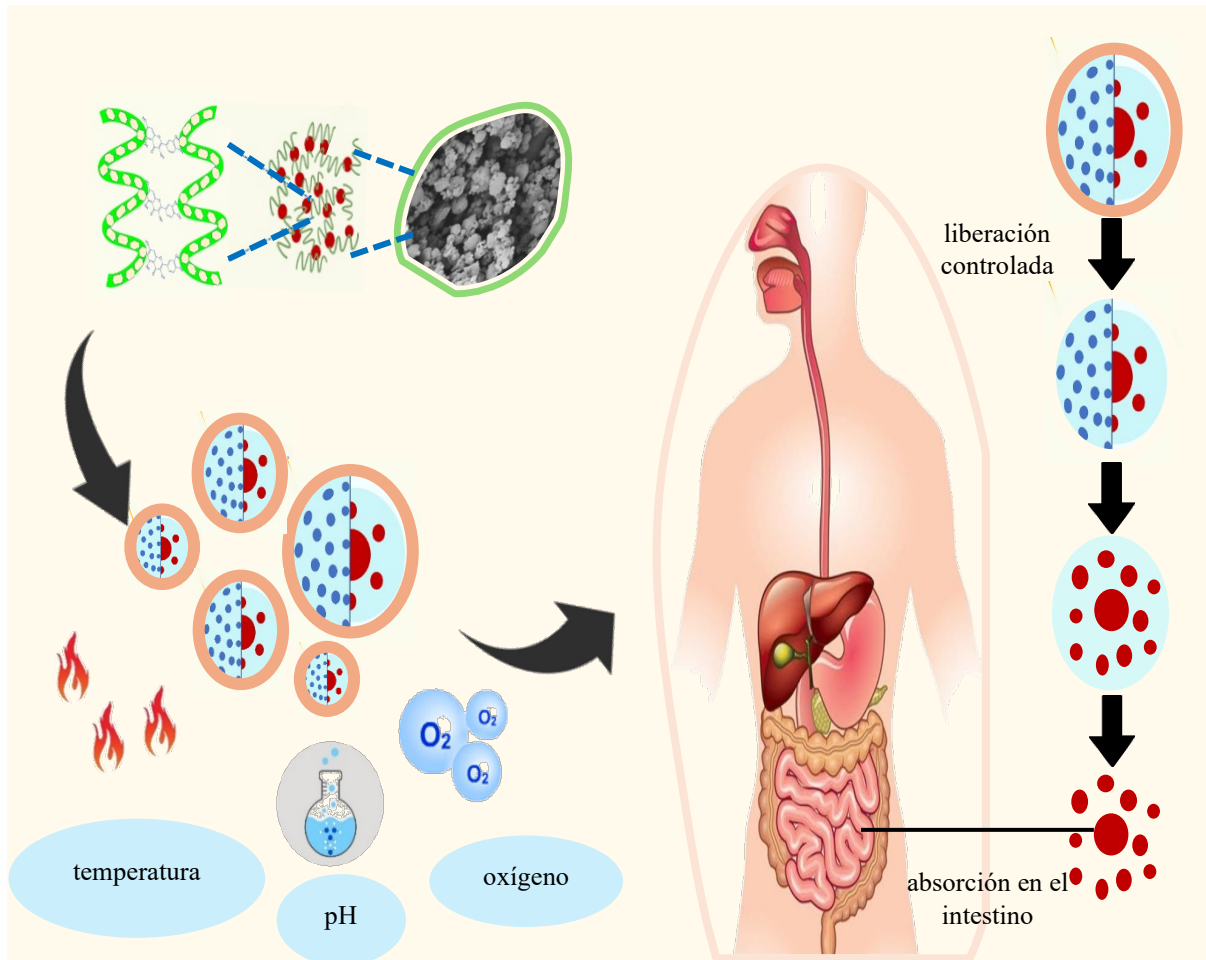
71 La hipertensión se considera un problema de salud pública a nivel mundial. Con frecuencia es
72 una enfermedad crónica asintomática y todavía representa un factor de riesgo clave de infarto de
73 miocardio, insuficiencia cardíaca y accidente cerebrovascular. La presión arterial alta afecta a
74 1000 millones de pacientes en todo el mundo y mata a 9 millones de personas al año. Esto
75 convierte a la hipertensión en una de las principales causas mundiales de morbilidad y mortalidad
76 prematura.

77 En los últimos años, el enfoque en la investigación se ha centrado en extractos naturales que
78 pueden usarse como potentes agentes fitoquímicos en el tratamiento terapéutico de la
79 hipertensión; uno de ellos es HS, conocido por sus propiedades medicinales que tiene varios
80 beneficios para la salud. Informes de investigación científica han proporcionado evidencia de
81 que el extracto de HS reduce significativamente la presión arterial. Destaca por su contenido en
82 compuestos fenólicos tales como flavonoides, antocianinas y ácidos fenólicos. La administración
83 de extractos naturales con compuestos bioactivos es de gran interés, sin embargo, existen
84 dificultades asociadas con la susceptibilidad e inestabilidad a factores ambientales, lo que resulta
85 en una pérdida de funcionalidad biológica. Por lo tanto, el desarrollo de un método fácil,
86 reproducible y económico para producir una forma estabilizada de extracto de cáliz para mejorar
87 la estabilidad y prolongar la vida útil es necesario.

88 La microencapsulación es una técnica que se ha aplicado para abordar la preocupación anterior,
89 ofreciendo protección a los extractos naturales. Convencionalmente, el secado por aspersión se
90 utiliza para la encapsulación de extractos con una carga y eficiencia de encapsulación
91 significativamente alta. El almidón es uno de los materiales poliméricos naturales más utilizados
92 como matriz sólida para la encapsulación debido a su disponibilidad, costo, compatibilidad, y a
93 las modificaciones que se pueden llevar a cabo para potencializar sus propiedades. El almidón
94 poroso es un almidón modificado con abundantes microporos desde la superficie hasta el centro
95 de sus gránulos, aumentando la superficie específica y mejorando su desempeño como material
96 pared. El uso de almidón poroso, obtenido mediante hidrólisis enzimática, principalmente α -
97 amilasa (AA) y amiloglucosidasa (AMG), se han utilizado para la encapsulación de sustancias
98 bioactivas ya que muestran un gran potencial. Por todo lo anterior se propuso en esta

99 investigación microencapsular extracto de cálices de jamaica (*H. sabdariffa* L) mediante secado
100 por aspersión utilizando almidón hidrolizado enzimáticamente y evaluar la estabilidad, así como
101 la actividad inhibitoria la ECA *in vitro* (Figura 7).

102



103 **Figura 7.** Representación de la liberación de las microcápsulas en condiciones gastrointestinales
104 y protección ante factores ambientales

105

106 **4. OBJETIVOS**

107 **4.1. Objetivo general**

108 Encontrar las condiciones óptimas del encapsulado del extracto HS mediante un diseño central
109 compuesto rotatable, evaluando la temperatura de entrada en el secador, la concentración de sólidos
110 solubles totales y la relación APM-GA, sobre la eficiencia de encapsulación, retención, liberación
111 controlada de los compuestos antioxidantes y la actividad inhibitoria de la ECA mediante un
112 estudio *in vitro*.

113

114 **4.2. Objetivos específicos**

115 1. Obtener las condiciones óptimas para extraer *Hibiscus sabdariffa L.* mediante un
116 diseño experimental Box-Behnken y modelo de superficie de respuesta y, caracterizar la
117 actividad antioxidante y el efecto sobre la actividad de la ECA.

118 2. Obtener mediante hidrólisis enzimática con α -amilasa y amiloglucosidasa el almidón
119 poroso de maíz y caracterizar fisicoquímica y morfológicamente.

120 3. Obtener mediante secado por aspersion y caracterizar microcápsulas de *Hibiscus*
121 *sabdariffa* cubiertas con almidón poroso y goma arábica.

122 4. Optimizar mediante un diseño experimental central compuesto rotatable y un modelo de
123 superficie de respuesta las microcápsulas obtenidas.

124 5. Evaluar la actividad antioxidante, estabilidad, bioaccesibilidad y su morfología las
125 microcápsulas optimizadas.

126 6. Evaluar la actividad de la ECA *in vitro* de microcápsulas optimizadas.

127 5. MATERIALES Y MÉTODOS

128 5.1. Materiales

129 El almidón de maíz nativo se adquirió de ALMEX-México (Guadalajara, Jalisco; México). Goma
130 arábica (51198), enzimas α -amilasa (A3306) y amiloglucosidasa (9032-08-0), se adquirieron de
131 Sigma-Aldrich de México (Toluca, Estado de México; México). Los cálices de HS se adquirieron
132 de la sierra de Guerrero; México). En las Figuras 8 y 9 se observan los diagramas de los
133 procedimientos que se realizaron al almidón de maíz, así como el estudio a las microcápsulas de
134 HS.

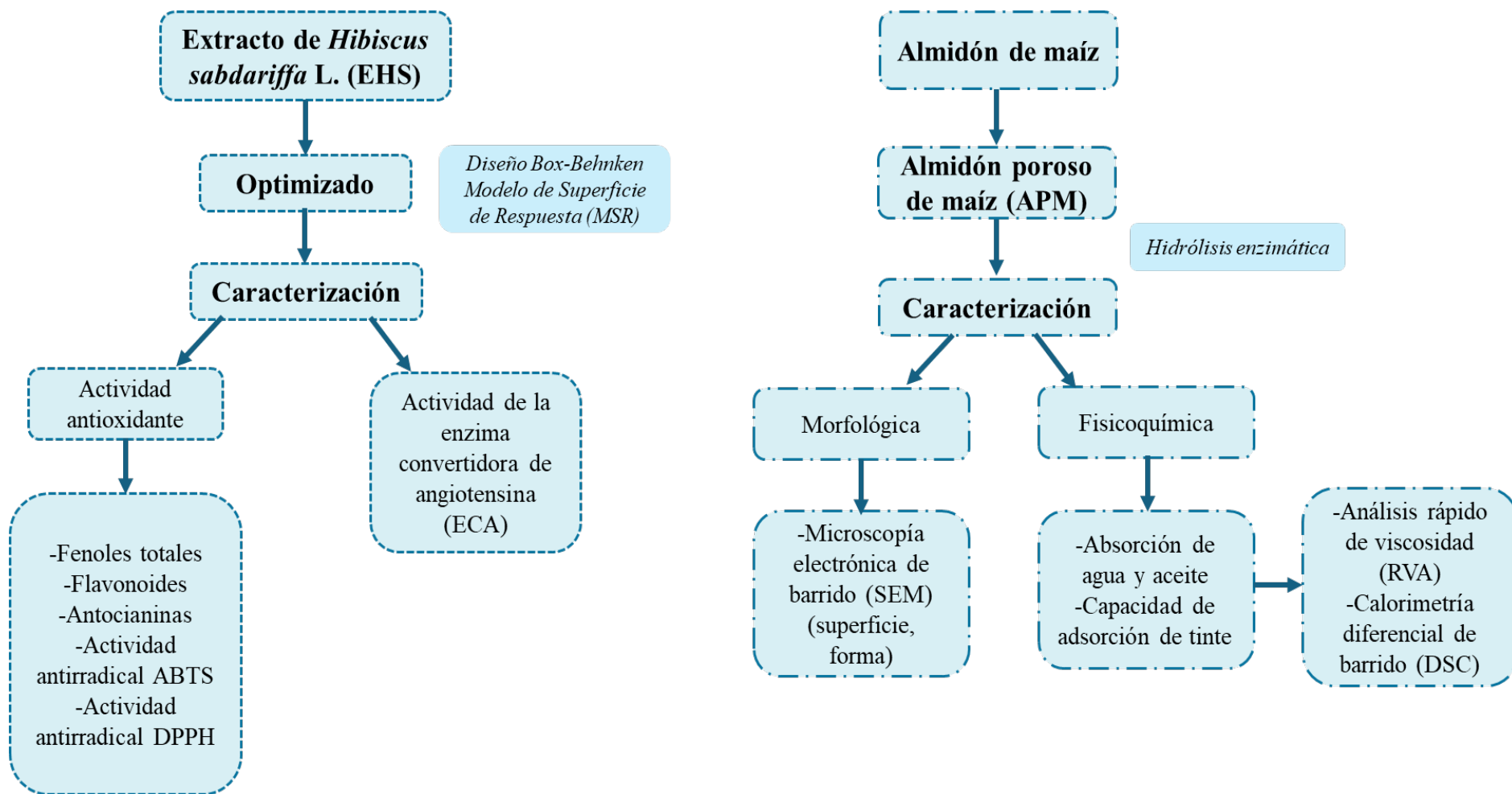
135 5.2. Obtención de extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

136 Para obtener el extracto acuoso del cáliz de jamaica óptimo, se siguió un diseño experimental
137 Box-Behnken y un modelo de superficie de respuesta (MSR) con tres variables de estudio. Se
138 pesaron los cálices en vasos de precipitado y se le adicionó el agua correspondiente a cada
139 tratamiento y se colocaron en una parrilla de calentamiento, cambiando tanto el tiempo y la
140 temperatura de acuerdo con el diseño planteado. Enseguida, se dejaron enfriar, y posteriormente
141 se recuperó el sobrenadante, el cual fue filtrado en papel Whatman no. 4, el extracto se almacenó
142 en refrigeración para sus respectivos análisis.

143 5.2.1. Diseño experimental Box-Behnken

144 Se utilizó un diseño experimental Box-Behnken, con las variables independientes de
145 concentración (1/30 g/mL a 1/10 g/mL), tiempo (3 min a 15 min) y temperatura (50 °C a 100
146 °C), obteniendo un total de 15 tratamientos (Tabla 4).

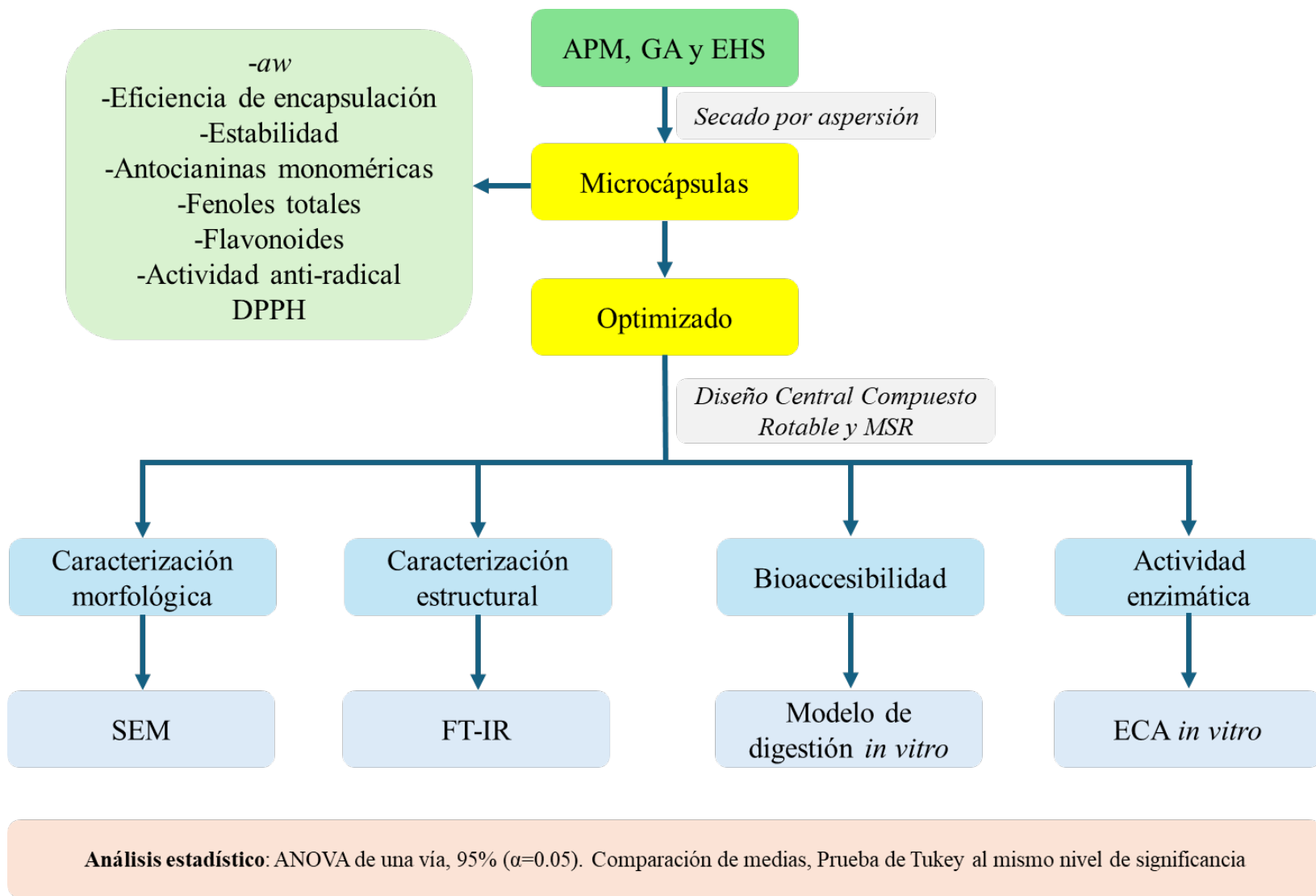
147 **Optimización.** Las condiciones de extracción fueron optimizadas para determinar la máxima
148 eficiencia y concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante. Las condiciones
149 óptimas se determinaron utilizando la función de deseabilidad del programa Design Expert
150 versión 13.0.5.0 (Stat-Fase, Inc, MN, USA). Las variables de respuesta para la optimización
151 fueron; antocianinas monoméricas totales, flavonoides, compuestos fenólicos y actividad
152 antioxidante (ABTS y DPPH).



154

155 **Figura 8.** Diagrama experimental de la caracterización de extracto y de caracterización de almidón modificado

156



157
158
159

Figura 9. Diagrama experimental de la caracterización de la obtención y caracterización de las microcápsulas de EHS

160 **Tabla 4.** Diseño experimental Box-Behnken del optimizado de las condiciones de extracción de HS

Tratamiento	Concentración (g/mL)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	1/30	3	75
2	1/10	3	75
3	1/30	15	75
4	1/10	15	75
5	1/30	9	50
6	1/10	9	50
7	1/30	9	100
8	1/10	9	100
9	1/20	3	50
10	1/20	15	50
11	1/20	3	100
12	1/20	15	100
13	1/20	9	75
14	1/20	9	75
15	1/20	9	75

161

162 5.3. Caracterización del extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

163 5.3.1. Cuantificación de antocianinas monoméricas totales

164 La concentración de antocianinas monoméricas totales se determinó de acuerdo con la
165 metodología de Lee et al. (2005), en un tubo de ensayo de 10 mL se adicionaron 3 mL de solución
166 buffer pH 1 y en otro 3 mL de solución buffer pH 4.5, a cada tubo se le adicionó 1.5 mL de
167 extracto y se midió la absorbancia a 520 nm (longitud de onda de máxima absorbancia de las
168 antocianinas) y a 700 nm en el espectrofotómetro UV (Spectronics Genesys 5 UV/Vis,
169 Spectronic Unicam, Rochester, NY, EE. UU), usando como blanco el buffer correspondiente.

170 La absorbancia final (AF) se calculó con la siguiente ecuación:

$$171 \quad AF = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4.5} \quad (\text{Ec. 1})$$

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

$$173 \quad \text{Antocianinas monoméricas totales (mg/L)} = A * PM * FD * 1000 / \xi * 1 \quad (\text{Ec. 2})$$

174 Donde ξ y PM, corresponden a la absortividad molar y peso molecular de la antocianina que
175 predomina en la muestra y FD es el factor de dilución. Dado que una de las antocianinas
176 predominantes en HS es la cianidina-3-glucósido, se utilizaron su absortividad molar (ξ : 26,900)
177 y peso molecular de 449.2 g/mol. El resultado obtenido se expresó como mg equivalentes de
178 cianidina-3-glucósido (EC3G) en 100 gramos de cáliz de flor de jamaica.

179 5.3.2. Cuantificación de flavonoides

180 El contenido de flavonoides totales se determinó siguiendo la metodología descrita por
181 Pourmorad et al. (2006). De cada extracto se tomaron 500 μ L y fueron colocados en tubos de 10
182 mL, enseguida se adicionaron 1.5 mL de etanol (95%), 100 μ L de acetato de potasio (1 M), 2800
183 μ L de agua destilada y finalmente 100 μ L de cloruro de aluminio ($AlCl_3$) (10%); se mezcló en
184 un agitador vortex la muestra y se dejó reposar por 40 minutos, transcurrido el tiempo se midió
185 la absorbancia a 415 nm. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de quercetina
186 (EQ) en 100 gramos de cáliz de flor de jamaica, utilizando una curva de 40 a 200 ppm de
187 quercetina.

188 **5.3.3. Cuantificación de fenoles totales**

189 Los compuestos fenólicos totales se determinaron a través del método de Folin-Ciocalteu
190 siguiendo la metodología descrita por Özen & Kinalioğlu (2008) con ligeras modificaciones. En
191 tubos de ensayo de 10 mL se colocaron 100 µL de extracto, 1000 µL de agua destilada, 500 µL
192 de reactivo de Folin-Ciocalteu y se mezcló completamente. Después de 3 min de reposo, se
193 agregaron 1500 µL de Na₂CO₃ (2%) y se dejaron reposar en oscuridad durante 40 minutos. La
194 absorbancia se midió a 765 nm. Para determinar la concentración de cada extracto se utilizó una
195 curva estándar de 0 a 500 ppm de ácido gálico (EAG) y el resultado se expresó como mg
196 equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de cáliz de flor de jamaica.

197 **5.3.4. Actividad antirradical ABTS y DPPH**

198 **ABTS.** La capacidad de eliminación de radicales libres de ABTS se evaluó según Re et al. (1999),
199 y este radical se obtuvo mediante la reacción de 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
200 (ABTS) (7 mM) con K₂S₂O₈ (2.45 mM) incubado a temperatura ambiente en oscuridad durante
201 16 horas. Enseguida se mezclaron 310 µL con 200 mL de buffer de ABTS (8 g NaCl, 0.2 g de
202 KCl y 1.44 g de KH₂PO₄ aforado a 1 L de agua destilada). A continuación, se ajustó la mezcla
203 anterior con el buffer hasta que la absorbancia fue de 0.7. Por último, se adicionaron 30 µL del
204 extracto más 2970 µL de la solución previamente ajustada y se hizo reaccionar durante 10 min
205 en la oscuridad. La absorbancia se midió a 734 nm y los resultados se expresaron en micromoles
206 equivalentes de trolox en 1 gramo de cáliz de flor de jamaica (µmol ET/ g).

207 **DPPH.** Del mismo modo, la capacidad de eliminación de radicales libres de DPPH se determinó
208 de acuerdo con el método de Brand-Williams et al. (1995) y este radical se obtuvo mediante la
209 reacción de 2,2-difenil-1-picrilhidracina (DPPH) (1 mM) con metanol incubado a temperatura
210 ambiente en oscuridad. A continuación, se ajustó la solución DPPH con metanol hasta que la
211 absorbancia fue de 0.5. Por último, se adicionaron 200 µL del extracto más 2000 µL de la solución
212 previamente ajustada y se hizo reaccionar durante 40 min en la oscuridad. La absorbancia se
213 midió a 520 nm y los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de trolox en 1 gramo
214 de cáliz de flor de jamaica (µmol ET/ g).

215 **5.3.5. Actividad inhibitoria de la ECA**

216 La actividad inhibitoria de la ECA se determinó con el método de Cushman & Cheung (1971),

217 modificado por Hernández-Ledesma et al. (2003) y Vargas-León et al. (2018). El método se basó
218 en la medida espectrofotométrica a 228 nm del ácido hipúrico, mediante la reacción del hipuril-
219 histidil-leucina (HHL) (sustrato) con la enzima convertidora de angiotensina (ECA), en presencia
220 y ausencia de inhibidor. Del extracto (10%) se tomó un volumen y se disolvió en agua
221 desionizada, se preparó el sustrato, constituido por HHL, disuelto en un tampón de fosfato
222 potásico 200 mM y cloruro sódico 300 mM, de pH 8.3. La enzima ECA se preparó a 4 mU,
223 disueltas en glicerol al 50%. Se formó la reacción de la enzima (25 µL), más el sustrato (110 µL)
224 y agua (15 µL), libre de inhibidor, para observar la formación del producto (ácido hipúrico). A
225 la par, se llevó a cabo la reacción en presencia del inhibidor, reemplazando los 15 µL de agua,
226 por el mismo volumen de extracto o medicamento control (Captopril). La reacción se mantuvo
227 durante 80 min a 37 °C. Posteriormente, la enzima se inactivó por descenso del pH, adicionando
228 110 µL de HCl 1 N. El ácido hipúrico, obtenido durante la reacción, se extrajo con 1100 µL de
229 acetato de etilo mediante la agitación y la formación de las dos fases, se tomaron 1000 µL de la
230 fase orgánica en un tubo limpio, para eliminar el acetato de etilo por calentamiento a 90 °C por
231 30 min. El residuo de ácido hipúrico se disolvió en 1100 µL de agua desionizada, y se midió la
232 absorbancia a 228 nm en un espectrofotómetro. Al mismo tiempo, se analizó un blanco para cada
233 reacción (con y sin inhibidor), de la misma forma, reemplazando la enzima por glicerol al 50%,
234 con la finalidad de eliminar la interferencia producida por la coloración de los extractos. El
235 porcentaje de inhibición fue determinado con la siguiente ecuación:

$$236 \quad \% \text{ Actividad ECA} = (A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}) - (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}) \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

237 Donde:

238 A_{control} : Absorbancia del ácido hipúrico formado tras la acción de la ECA sobre el HHL, sin
239 inhibidor.

240 A_{blanco} : Absorbancia del HHL que no ha reaccionado, en ausencia de enzima, y que ha sido
241 extraído con el acetato de etilo.

242 A_{muestra} : Absorbancia del ácido hipúrico formado tras la acción de la ECA sobre el HHL, en
243 presencia de sustancias inhibidoras.

244 La prueba de la inhibición contra la ECA fue aplicada al extracto que presentó mayor contenido

245 de compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides y antocianinas) y este fue utilizado para el
246 proceso de secado por aspersión.

247 **5.4. Obtención de almidón poroso**

248 La hidrólisis enzimática del almidón de maíz se siguió de acuerdo con el método descrito por
249 Leyva-López et al. (2019). La muestra de almidón de maíz comercial (25% p/v) se disolvió en
250 buffer de acetato de sodio (50 mM, pH 4.02), se agregó una mezcla de enzimas (AA y AMG)
251 (10 U/g de almidón) durante 16 horas, en un baño de agua a 30 °C, con agitación a 380 rpm. La
252 hidrólisis se terminó con la neutralización del pH con NaOH 1M. Los hidrolizados se lavaron
253 tres veces con agua destilada. La mezcla se dejó en reposo, se separó el sobrenadante y los sólidos
254 se secaron en un horno a 35 °C, durante 24 h. Una vez que la muestra se secó, se pasaron a través
255 de un molino y una malla 325 (45 µm), y se almacenó en un contenedor sellado hasta su análisis.

256 **5.4.1. Caracterización morfológica de los almidones: SEM**

257 Para determinar la morfología de los gránulos se utilizó el método reportado por Paredes-López
258 et al. (1989) utilizando el microscopio electrónico de barrido (JEOL, JSM-5800LV,
259 Massachusetts; Estados Unidos). Las muestras de almidones modificados previamente secas se
260 colocaron sobre una cinta conductora de cobre de doble adhesión, la cual se fijó previamente en
261 un soporte de aluminio del microscopio. Las muestras se cubrieron con una capa de carbón de
262 30 nm y enseguida se colocaron en el ionizador de metales y se recubrieron con una capa de oro.
263 Las muestras fueron observadas a aumentos X1000 y X4000 en almidones hidrolizados y en los
264 microencapsulados.

265 **5.4.2. Caracterización fisicoquímica de los almidones**

266 **5.4.2.1. Absorción de agua y aceite**

267 Las capacidades de absorción de aceite y agua se determinaron siguiendo la metodología de
268 Yousif et al. (2012), con ligeras modificaciones. Las muestras de almidón (100 mg) se agitaron
269 con 1 ml de agua y/o aceite de soja en un tubo de centrifuga de 1 ml durante 20 min, después se
270 centrifugaron a 4000 \times g durante 15 min. A continuación, se eliminó cuidadosamente el
271 sobrenadante. El aceite y el agua restantes se decantaron usando papel de filtro. Cuando no goteó
272 más agua y/o aceite sobre el papel filtro, se pesó el gránulo. La capacidad de absorción se calculó

273 como el peso del precipitado húmedo dividido por el peso seco de la muestra (g/g).

274 **5.4.2.2. Capacidad de adsorción de tinte (DAC)**

275 Se siguió la metodología de Tseng et al. (2005). Se sumergió una muestra de almidón (1 g, base
276 seca) en las soluciones de 20 mg/L de azul de metileno y rojo neutro (pH 7) a 25 °C, agitando
277 constantemente durante 2 h. La concentración de colorante en la solución se determinó a 665 nm
278 utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (TU-1810, Persee, Beijing, China). La capacidad de
279 adsorción de tinte se calculó usando la siguiente ecuación:

$$280 \quad \text{DAC} = (C1 - C2) \times V \times M / W \quad (\text{Ec. 4})$$

281 donde C1 y C2 son la concentración de colorante en la solución antes y después de la adsorción,
282 respectivamente; V es el volumen de la solución de tinte; W es el peso de la muestra de almidón;
283 M es el peso molecular del tinte.

284 **5.4.3. Propiedades térmicas de los almidones**

285 Las propiedades térmicas de los almidones fueron estudiadas usando un calorímetro diferencial
286 de barrido (DSC) Q2000 W/MDSC (TA Instruments, Newcastle, Inglaterra), calibrado
287 previamente con Indio. Se evaluó de acuerdo con el método propuesto por Paredes-López et al.
288 (1994). Se pesaron 2 ± 0.05 mg de almidón (en base seca, triplicado) dentro de una charola de
289 aluminio hermético, posteriormente se le adicionaron 7 µL de agua destilada. La charola se selló
290 herméticamente y se dejó hidratar por 30 min antes de realizar el análisis. Como referencia se
291 utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a una rampa de temperatura de 30 a 120 °C con
292 una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. La temperatura de inicio (Ti), la temperatura de
293 gelatinización o de pico (Tp), la temperatura final (Tf) y la diferencia de entalpía (ΔH) se
294 obtuvieron directamente del análisis que se realizó con el software TA Instruments, versión 4.4^a.

295 **5.4.4. Análisis rápido de viscosidad**

296 Los almidones de maíz fueron analizados por la metodología propuesta por Hernandez-Uribe et
297 al. (2011) utilizando el Analizador Rápido de Viscosidad (RVA Perten 4500). Se prepararon
298 suspensiones de almidones al 14% (p/v) de sólidos totales, 29 g en total fueron transferidos al
299 tazón del analizador rápido de viscosidad. Se inició con una fase de acondicionamiento de la
300 muestra mediante agitación a 960 rpm, seguido de un calentamiento a 50 °C durante 1 min,

301 seguido de 3 pasos a 160 rpm, un calentamiento de 50 a 91 °C de 3 min, equilibrio a 91 °C por
302 3.5 min y una disminución de temperatura a 50 °C de 3.5 min para concluir la prueba a 50° C
303 durante 2 min.

304 **5.5. Microencapsulación del extracto *Hibiscus sabdariffa* L.**

305 Se utilizaron almidón poroso de maíz (APM) y goma arábiga (GA) como material de pared para
306 el microencapsulado (ME) del extracto de *Hibiscus sabdariffa* (EHS). La concentración de
307 sólidos totales (CST) (mezcla de APM y GA) fue de 8% a 25% en 100 ml de agua y 20 ml de
308 EHS; el contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) fue de 0.4 ± 0.017 mg EC3G/mL.
309 Las mezclas (EHS, APM y GA) se homogeneizaron antes del secado en un secador por aspersión
310 (Mini Spray Dryer B-290, Buchi, Suiza) equipado con una boquilla de presión. La relación APM-
311 GA fue de 1:0 a 0.88:0.12. La temperatura del aire de entrada y la velocidad de la bomba del
312 secador fueron de 100 a 180 °C y 7 ml/min, respectivamente. Se aplicó un DCCR optimizado
313 por MSR para estudiar las condiciones óptimas para ME por secado por aspersión. La Tabla 5
314 resume los 20 experimentos realizados en este estudio (cada experimento se realizó por
315 triplicado). Cabe señalar que la retención de compuestos activos está directamente relacionada
316 con la temperatura del sistema de alimentación, el TSC en la solución de alimentación y la
317 relación APM-GA (Gül et al., 2020; Sarabandi et al., 2018; Tupuna et al., 2018). Los polvos
318 atomizados se recogieron y se colocaron en frascos de vidrio de color ámbar a 4 °C hasta su uso
319 por un máximo de 24 h.

320 **Tabla 5.** Variables independientes del DCCR para el optimizado en la microencapsulación de HS

Corrida	Parámetros independientes			
	Temperatura (°C)	Sólidos (%)	Almidón poroso (%)	Goma arábiga (%)
1	116	11.4	90.4	9.6
2	164	11.4	90.4	9.6
3	116	21.6	90.4	9.6
4	164	21.6	90.4	9.6
5	116	11.4	97.6	3.4
6	164	11.4	97.6	3.4
7	116	21.6	97.6	3.4
8	164	21.6	97.6	3.4
9	100	16.5	94	6
10	180	16.5	94	6
11	140	8	94	6
12	140	25	94	6
13	140	16.5	88	12
14	140	16.5	100	10
15	140	16.5	94	6
16	140	16.5	94	6

17	140	16.5	94	6
18	140	16.5	94	6
19	140	16.5	94	6
20	140	16.5	94	6

321 Δ : Concentración de sólidos totales (mezcla de almidón poroso y goma arábica). Por ejemplo, en la corrida 1 hay 11.4% de sólidos
322 equivalente a 11.4 g, de los cuáles 10.3 g son de almidón poroso (90.4%), y 1.1 g de goma arábica (9.6%).

323 **5.6. Cuantificación de compuestos bioactivos en los microencapsulados**

324 **AMT.** Se pesaron 30 mg de las microcápsulas obtenidas en un microtubo y se le adicionó 1.1
325 mL de agua desionizada y se agitó vigorosamente por 10 minutos (para romper la cápsula),
326 posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante, se
327 realizaron dos lavados consecutivos para obtener un volumen final de 2.2 mL y finalmente la
328 muestra se aforó en un matraz de 10 mL. Posteriormente se siguió la técnica descrita en el
329 apartado 4.3.1 para la cuantificación de AMT.

330 Para la cuantificación de **compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antirradical DPPH,**
331 se siguió la misma metodología descrita en los apartados 4.3.2., 4.3.3. y 4.3.4. respectivamente.

332 **5.7. Retención de compuestos activos de microcápsulas**

333 La retención de compuestos activos de las microcápsulas se determinó en función de la
334 concentración de AMT en las microcápsulas (200 mg), como se describe en la Sección 4.3.1. La
335 eficiencia de retención de antocianinas se determinó midiendo la cantidad total de antocianinas
336 en las muestras de microcápsulas, es decir, carga del núcleo experimental, y comparando este
337 valor con la cantidad total de antocianinas esperadas en cada muestra de microcápsula, es decir,
338 carga del núcleo teórica (Finotelli & Rocha-Leão, 2005). La estabilidad se determinó como la
339 proporción de antocianinas en un tiempo de almacenamiento determinado (Tari et al., 2003).

340 **Retención de compuestos bioactivos (%)** = $\frac{\text{AMT al tiempo X almacenamiento}}{\text{AMT al tiempo 0 almacenamiento}} * 100$ (Ec. 5)

341 **5.8. Determinación de la actividad del agua en microcápsulas**

342 La actividad del agua (a_w) se determinó utilizando un medidor de actividad de agua Aqualab
343 (3TE, Decagon Devices, In., EE. UU.) previamente calibrado con carbón activado ($a_w < 0.500$)
344 y agua destilada ($a_w = 1.000 \pm 0.003$). Se analizaron muestras por triplicado (0.50 g) de las
345 microcápsulas según el método propuesto por Carrillo-Navas et al. (2011).

346 **5.9. Microscopia electrónica de barrido**

347 Para determinar la morfología de los gránulos se utilizó el método reportado por (Paredes-López

348 et al., 1989) utilizando el microscopio electrónico de barrido (JEOL, JSM-5800LV,
349 Massachusetts; Estados Unidos) siguiendo la técnica descrita en el apartado 4.5.

350 **5.10. Digestión *in vitro***

351 Ahmad et al. (2018) adaptaron un modelo estático que simula la digestión en la boca, el estómago
352 y el intestino. La solución de saliva simulada ($\text{pH } 6.8 \pm 0.2$) se preparó disolviendo α -amilasa al
353 0.2% en solución salina tamponada con fosfato. El jugo gástrico simulado (SGJ) se preparó
354 disolviendo 3 g/l de pepsina en una solución estéril de NaCl (9 g/l) y el pH se ajustó a 3.0 con
355 1.0 mol/l de HCl. El jugo intestinal simulado (SIJ) se preparó disolviendo 3 g/l de sales biliares
356 y 10 g/l de pancreatina en solución salina tamponada con fosfato; El pH se mantuvo a 8 con
357 solución de NaOH 0.1 M. El SGJ y el SIJ se prepararon según el método de Gani et al. (2018).
358 Se colocaron muestras de polvo (100 mg) en un matraz de 125 ml y se incubaron a 37 °C con
359 agitación constante. Las muestras fueron digeridas secuencialmente. Se añadió jugo salival (10
360 ml) a la muestra de la boca, que luego se mezcló durante 5 minutos y se recogió una alícuota de
361 1 ml. Se añadió SGJ (10 ml) a la muestra de estómago y la mezcla se mantuvo en agitación
362 constante. Se recogió una alícuota (1 ml) después de 1 h de incubación. La muestra de intestino
363 se mantuvo en agitación/mezcla constante y se agregaron 10 ml de SIJ; Se recogieron alícuotas
364 de 1 ml después de 4 h. Todas las alícuotas se centrifugaron a 7125 rpm durante 5 minutos y se
365 filtró el sobrenadante. La cantidad de antocianinas liberadas se midió utilizando el diferencial de
366 pH (Sección 4.3.1). Las muestras se tomaron por triplicado cada semana durante ocho semanas.

367 **5.11. Estudio de estabilidad**

368 Las microcápsulas se almacenaron en desecadores durante 8 semanas a 55 °C y 52.86% HR,
369 mantenidas con una solución saturada de NaBr. Se tomaron muestras por triplicado cada semana
370 y se estimó el contenido de TMA como se describe en la Sección 2.4.3.

371 **5.12. Actividad inhibitoria de ECA**

372 Se pesaron 30 mg de las microcápsulas obtenidas en un microtubo y se le adicionó 1.1 mL de
373 agua desionizada y se agitó vigorosamente por 10 minutos (para romper la cápsula),
374 posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante, se
375 realizaron dos lavados consecutivos para obtener un volumen final de 2.2 mL y finalmente la

376 muestra se aforó en un matraz de 10 mL. Posteriormente se siguió la técnica descrita en el
377 apartado 4.3.5 para calcular el % de inhibición de la ECA.

378 **5.13. Diseño experimental y análisis estadístico**

379 Se utilizó RSM para investigar las condiciones óptimas para ME de HS. Se empleó el DCCR con
380 8 puntos factoriales (± 1), 6 puntos centrales (nivel 0) y 6 puntos axiales (± 1.68), dando un total
381 de 20 corridas experimentales para evaluar la interrelación entre las variables independientes y
382 las de respuesta.

383 Las respuestas fueron *aw*, PT, FT, AMT, actividad eliminadora de DPPH, eficiencia de
384 encapsulación (EE) y estabilidad. Para el diseño experimental se utilizó una temperatura de
385 entrada (TE) de diseño factorial de tres niveles entre 100 y 180 °C (A), alimentación de CST de
386 8 a 25% (B) y relación APM:GA (1:0 a 0,88:0,12) (C). Se llevó a cabo un análisis de regresión
387 sobre los datos experimentales. La relación entre las variables independientes y dependientes se
388 calculó mediante una ecuación polinómica de segundo orden:

$$389 \quad Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{1,2} X_1 X_2 + \beta_{1,3} X_1 X_3 + \beta_{2,3} X_2 X_3 + \beta_{1,1} X_1^2 + \beta_{2,2} X_2^2 + \\ 390 \quad \beta_{3,3} X_3^2 \quad \text{(Ec. 6)}$$

391 donde Y =variables de respuesta; X = variables independientes (X₁ representa TE; X₂ CST; X₃
392 relación APM-GA); β_0 es la constante (intercepto); β_1 , β_2 y β_3 son el coeficiente lineal de
393 temperatura, CST y relación APM-GA, respectivamente; $\beta_{1,1}$, $\beta_{2,2}$ y $\beta_{3,3}$ es el coeficiente
394 cuadrático; $\beta_{1,2}$, $\beta_{1,3}$ y $\beta_{2,3}$ son los coeficientes de interacción.

395 Los niveles óptimos de valores independientes se analizaron mediante la función de deseabilidad,
396 una técnica que asigna una puntuación entre 0 y 1 a un conjunto de respuestas y elige los factores
397 que maximizan esa puntuación (Bezerra et al., 2008). Se utilizó el ensayo Design Expert v7.1.6
398 (Stat-Ease, Inc., MN, EE. UU.) para la regresión, los coeficientes de correlación, ANOVA y la
399 optimización.

400 Las variables de respuesta para realizar la optimización fueron; antocianinas monoméricas,
401 flavonoides, compuestos fenólicos y actividad antioxidante DPPH, estabilidad (envejecimiento
402 acelerado).

403 Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0,05$) entre la comparación de medias
404 y se realizaron comparaciones múltiples en STATISTICA v10 utilizando la prueba de Tukey.

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425 6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

426 6.1. Extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

427 El diseño experimental Box-Behken utilizado para la optimización del EHS se presenta en la
428 Tabla 4 con los 3 diferentes factores de estudio: relación cáliz/solvente (A), tiempo de extracción
429 (B) y temperatura de extracción (C). Las diferentes condiciones experimentales evaluadas
430 tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre las respuestas evaluadas: antocianinas
431 monoméricas totales (AMT), polifenoles totales (PT), flavonoides totales (FT) y actividades
432 antioxidantes (DPPH y ABTS). Las concentraciones fueron de 344 a 1086 mg EC3G/100g, 1698
433 a 3290 mg EAG/100g y 575 a 940 mg EQ/100g para AMT, PT y FT respectivamente (Tabla 6).
434 Unas concentraciones de 1336 a 3715 y de 1815 a 2162 mmol ET/100g para la actividad
435 antirradical DPPH y ABTS respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por
436 Villalobos-Vega et al. (2023) & Salmerón-Ruiz et al. (2019) sobre la extracción de compuestos
437 y actividades antioxidantes bajo condiciones experimentales: relación soluto/disolvente,
438 temperatura y tiempo de extracción. Estos factores son los principales parámetros que influyen
439 en la eficiencia de extracción de compuestos antioxidantes y sus actividades (Sanou et al., 2023).
440 Además, se determinó el análisis de varianza de los diferentes factores de estudio sobre las
441 variables de respuesta (A: relación cáliz/disolvente, B: tiempo de extracción y C: temperatura de
442 extracción), la interacción de los factores (AB, AC, BC) así como las expresiones cuadráticas
443 (A^2 , B^2 , C^2) (Tabla 7). A continuación, se analizará cada variable de respuesta para llegar al
444 optimizado del extracto de EHS.

445

446

447

448

449

450 **Tabla 6.** Valores de las variables de respuesta en el diseño experimental Box-Behnken para el optimizado del extracto HS

Corrida	Variables independientes			Variables dependientes				
	Relación cáliz/solvente (g/ml)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	AMT (mg EC3G/ 100 g)	PT (mg EAG/ 100 g)	FT (mg EQ/ 100 g)	AA DPPH (mmol ET/100 g)	AA ABTS (mmol ET/ 100g)
1	1/10	9	50	344	1698	575	1495	1900
2	1/20	3	100	815	2559	805	3000	2100
3	1/10	15	75	627	2810	845	2840	2118
4	1/30	9	100	1086	3002	940	3555	2100
5	1/10	9	100	876	2624	909	3195	2162
6	1/20	9	75	920	2591	742	2848	2061
7	1/10	3	75	827	2548	787	2880	1940
8	1/20	15	50	385	2036	600	1480	1960
9	1/20	15	100	784	2920	900	3469	2137
10	1/20	3	50	412	1715	590	1336	1815
11	1/20	9	75	940	2497	710	2871	2083
12	1/30	9	50	519	2016	795	1870	1895
13	1/20	9	75	930	2587	718	2893	2090
14	1/30	15	75	966	3290	901	3715	2045
15	1/30	3	75	890	2615	915	2620	2008

451 EAG=Equivalentes de ácido gálico, EQ=Equivalentes de quercetina, EC3G=Equivalentes de cianidina-3-glucósido. ET=Equivalentes trolox.
 452 DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil. ABTS: 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal de diamonio

453 **Tabla 7.** ANOVA para el optimizado del extracto de *H. sabdariffa* L

Términos	Antocianinas monoméricas totales (AMT)	Polifenoles totales (PT)	Flavonoides (FT)	Actividad antirradical DPPH	Actividad antirradical ABTS
Intercepto	930.723	2558.72	724.092	2870.67	2078
A	-98.306	-155.33	-54.2289	-168.75	9
B	-35.0915	202.372	18.6484	208.5	49.625
C	250.147	455.04	124.203	879.75	116.125
AB	-68.8167	-103.45	17.8248	-283.75	35.25
AC	-8.68342	-15.2507	47.4525	3.75	14.25
BC	-16.1751	10.1848	20.9475	81.25	-27
A ²	-5.2286	142.729	109.816	175.292	-19.5
B ²	930.723	114.893	28.5411	-32.2083	-30.75
C ²	-98.306	-365.761	-28.5806	-517.208	-44.25
Residual	5260.77	20722.90	1746.10	36211.17	1077.75
R ²	0.9935	0.9929	0.9919	0.9956	0.9928
R ² Ajustada	0.9819	0.9800	0.9773	0.9878	0.9797

454 Los valores en negrita indican un efecto significativo ($p < 0.01$) sobre la variable respuesta. A: Relación cáliz/solvente (g/mL), B: Tiempo de extracción
 455 (min) y, C: Temperatura de extracción (°C). DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil. ABTS: 2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico]-sal de
 456 diamonio.

457 6.1.1. Antocianinas monoméricas totales

458 La Tabla 7 mostró que los efectos lineales (A, B y C), los coeficientes cuadráticos (B² y C²) y el
459 coeficiente de interacción AB (relación cáliz/disolvente y tiempo de extracción) fueron
460 significativos en el modelo desarrollado para antocianinas monoméricas totales (AMT) (p<0.05).
461 Además, los valores altos de R² y R² ajustada, 0.993 y 0.981 respectivamente, confirmaron que
462 el modelo matemático de la Ecuación 7 (AMT) fue adecuado para predecir el contenido de AMT
463 según las diversas combinaciones de valores de las variables.

$$464 \text{AMT} = -2111 + 1555.2A + 74B + 64.1C - 343.9AB - 2.71B^2 - 0.34C^2 \quad (\text{Ec. 7})$$

465 La relación de solvente más alta (0.03 g/mL) generó un gradiente de densidad más alto y por
466 ende un coeficiente de distribución más alto, lo que resultó en una liberación más rápida del
467 tejido celular y, por lo tanto, en una mayor cantidad de antocianinas extraídas (Fig. 10) (Khazaei
468 et al., 2016). En general se observó que el aumento de temperatura da como resultado una mayor
469 concentración de antocianinas del extracto; esto se debe a una mayor solubilidad que facilita la
470 difusión de la antocianina desde los cálices al disolvente. Esta tendencia fue reportada por
471 investigadores para la extracción de compuestos bioactivos (paclitaxel) de *Taxus chinensis* y de
472 antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* (Aneke et al., 2023; Jo et al., 2019). Un aumento del volumen
473 de disolvente en el sistema aumentó el rendimiento de extracción que conduce a una extracción
474 más eficiente. La fuerza impulsora durante la transferencia de masa fue el gradiente de
475 concentración entre el sólido y el líquido, que fue mayor para una mayor proporción de líquido
476 a sólido, lo que resultó en un aumento de la velocidad de difusión.

477 También se puede observar que después de determinado tiempo (~8 min) la concentración de
478 AMT disminuye. Esta disminución se explica por los efectos cuadráticos que pasa por los
479 máximos (curvatura de las superficies de respuesta). Esto puede deberse al fenómeno de
480 saturación del solvente y simultáneamente a la degradación de las antocianinas ya extraídas
481 (Chan et al., 2009; Shi et al., 2003), por lo que los resultados obtenidos pueden explicarse por la
482 segunda ley de difusión de Fick, que predice que después de cierto tiempo, habrá un equilibrio
483 final entre la concentración de soluto en la matriz sólida (muestra vegetal) y en la solución
484 (disolvente de extracción). (Benchikh & Louailèche, 2014; da Silva et al., 2007). Por lo tanto, un
485 tiempo de extracción excesivo no fue útil para extraer más antocianinas de los cálices de HS.

486

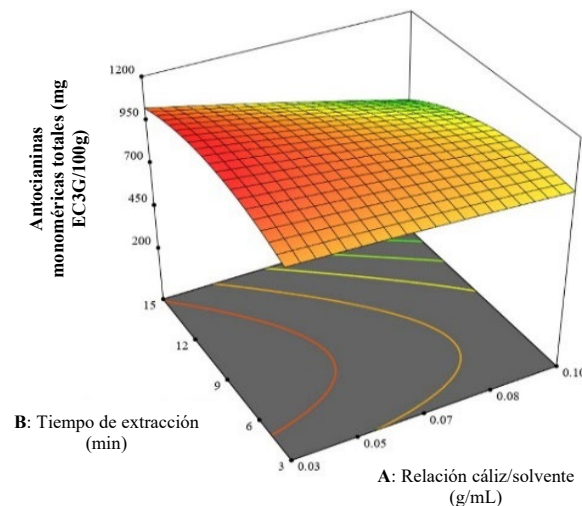
487

488

489

490

491



492 **Figura 10.** Superficie de respuesta 3D de antocianinas monoméricas totales en función de la
493 relación cáliz/ solvente (A) y del tiempo de extracción (B).

494 6.1.2. Fenoles totales y flavonoides

495 La Tabla 7 mostró que los efectos lineales (A, B y C) y los coeficientes cuadráticos (A², B² y C²)
496 fueron significativos en el modelo desarrollado para PT y FT (p<0.05). El coeficiente de
497 interacción AB (relación cáliz/disolvente y tiempo de extracción) fue significativo para fenoles
498 totales y de interacción AC (relación cáliz/disolvente y temperatura de extracción) para
499 flavonoides totales. Los valores altos de R², 0.992 y 0.991; y R² ajustada, 0.98 y 0.977
500 respectivamente, confirmaron que los modelos matemáticos de las Ecuaciones 8 (PT) y 9 (FT)
501 fueron adecuados para predecir la concentración de fenoles totales como de flavonoides totales.

502 **PT**= -1618-15734A+5.6B+106C-517AB+128327A²+3B²-0.6C² (Ec. 8)

503 **FT**=1110-19858A-27.6B+6.8C+57AC+98735A²+0.8B²-0.04C² (Ec. 9)

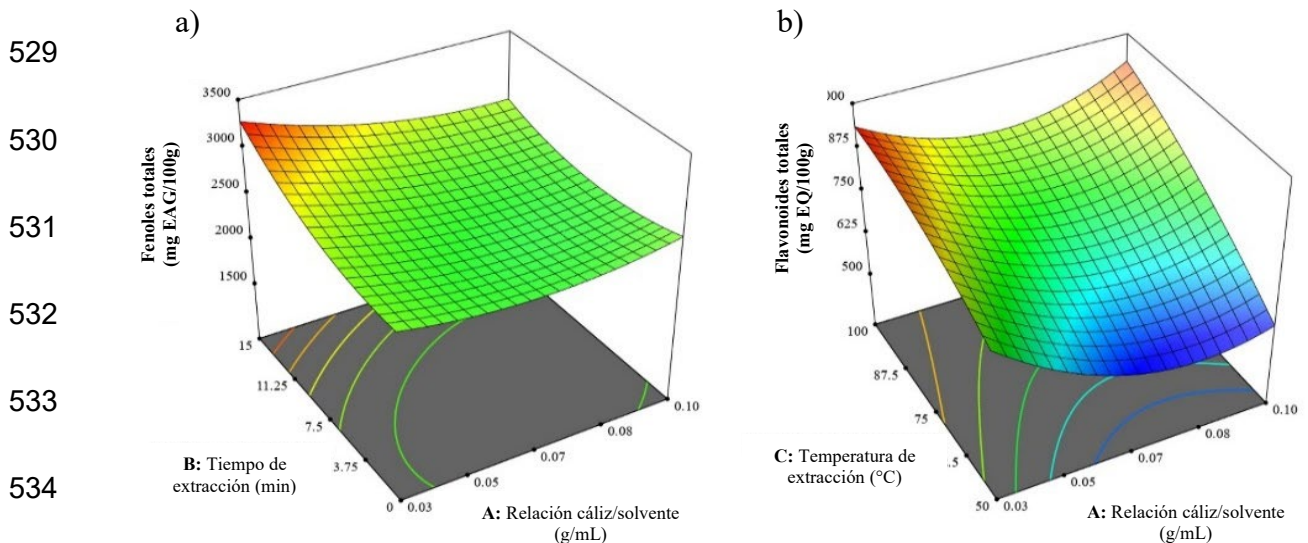
504 De acuerdo con los gráficos de superficie de respuesta 3D (Figs. 11a y 11b), los valores de fenoles
505 y flavonoides totales aumentaron gradualmente con el tiempo de 10 min a 15 min, con una
506 temperatura de 75 °C a ~90 °C, con una relación soluto/ solvente de 0.03 g/mL. De manera
507 similar, Pashazadeh et al. (2021) encontraron que el contenido total de fenoles y flavonoides
508 aumentaba con el incremento de temperatura. Eso puede deberse a la despolimerización y/o
509 descomplejamiento de compuestos fenólicos a altas temperaturas.

510 Se puede aumentar la permeabilidad de los tejidos celulares, mejorando así la extracción de

511 polifenoles de los alimentos (Barba et al., 2015). González-Aguilar et al. (2017) han informado
512 que las interacciones polifenol-material de la pared celular dependen de la fuerza iónica, el pH y
513 la temperatura. Valores cercanos a los 100 °C se puede observar que hay una disminución de
514 fenoles totales. Estas temperaturas pueden acelerar la extracción de otros componentes celulares,
515 como azúcares, y estos pueden tener interacción con el solvente (Antony & Farid, 2022).

516 De ahí la importancia del estudio del factor relación cáliz/solvente. Cuanto mayor sea la relación
517 cáliz/solvente, mayor será el rendimiento de la extracción, de acuerdo con los principios de
518 transferencia de masa, que incluyen la fuerza impulsora durante la transferencia de masa y el
519 gradiente de concentración entre el soluto y el solvente, que es mayor cuando un mayor volumen
520 de solvente es utilizado (Pinelo et al., 2005). Según el MSR, el mayor rendimiento se obtendría
521 utilizando una relación cáliz/solvente = 0.03 (g/mL). Cacace & Mazza (2003) informaron un
522 comportamiento similar al extraer compuestos fenólicos de grosella negra y de bayas molidas.

523 Sin embargo, los tiempos prolongados de extracción a altas temperaturas pueden degradar y
524 oxidar los compuestos fenólicos; en consecuencia, la capacidad antioxidante se reduce. Según
525 Ferreyra et al. (2021), la concentración de compuestos fenólicos de los subproductos de uva
526 aumenta con el tiempo de extracción, a la temperatura adecuada. Esto coincidió con la
527 temperatura de trabajo empleada en este estudio que requirió períodos cortos de tiempo (12 min)
528 para evitar la pérdida de los compuestos.



535 **Figura 11.** Superficie de respuesta 3D de concentración de fenoles totales (a) y flavonoides
536 totales (b).

537 6.1.3. Actividad antioxidante DPPH y ABTS

538 Para expresar la significación del modelo cuadrático utilizado, se siguieron las Ecuaciones 10 y
539 11, para actividades antirradicales DPPH y ABTS respectivamente. Además, los valores altos de
540 R^2 , 0.995 y 0.992; y R^2 ajustada, 0.987 y 0.979 respectivamente, confirmaron que los modelos
541 matemáticos de las ecuaciones fueron adecuados para predecir las actividades antirradicales
542 DPPH y ABTS.

$$543 \quad \text{AA DPPH} = -4234 - 13644A + 105B + 154C - 1418AB + 0.5BC + 157605A^2 - 0.8C^2 \quad (\text{Ec. 10})$$

$$544 \quad \text{AA ABTS} = 1162 - 260.4A + 25.4B + 15.7C + 176AB - 0.18BC - 0.85B^2 - 0.07C^2 \quad (\text{Ec. 11})$$

545 Los efectos de las variables independientes sobre las respuestas se dan en la Tabla 7. Las unidades
546 lineales de temperatura (C), tiempo de extracción (B) y relación cáliz/solvente (A) tuvieron un
547 impacto significativo tanto en la actividad antirradical DPPH como en ABTS. El término de
548 interacción que tuvo efecto sustancial en las respuestas de actividades antioxidantes fue la
549 interacción relación soluto/solvente con el tiempo de extracción (AB) y el tiempo de extracción
550 con la temperatura de extracción (BC). En cuanto a los términos cuadráticos la relación
551 cáliz/solvente (A^2) y la temperatura (C^2) tuvo efecto significativo ($p < 0.05$) para la actividad
552 antirradical DPPH y la relación cáliz/solvente (A^2) y el tiempo (B^2) para la actividad antirradical
553 ABTS.

554 La actividad antioxidante DPPH y ABTS (Fig. 12) mayor se llevó a cabo con el aumento la
555 relación soluto/solvente hasta alcanzar el valor óptimo (0.03 g/mL). Un mayor gradiente de
556 concentración aumenta la velocidad de difusión cuando aumenta la cantidad de disolvente; esto
557 es consistente con el principio de transferencia de masa (Tan et al., 2019). Existe una interrupción
558 de las interacciones polifenol-polifenol (en la pared celular), lo que da como resultado una mayor
559 cantidad de moléculas de polifenol libres y accesibles que no interactúan y que contribuyen a una
560 mayor capacidad antioxidante (Nagar et al., 2020). Comportamiento similar a lo reportado por
561 Jakobek et al. (2011) donde utilizó una mezcla de varias fracciones polifenólicas de chokeberry
562 (aronia negra).

563 Varios estudios previos probaron el efecto de la temperatura y el tiempo de extracción en la
564 capacidad antioxidante de los alimentos, principalmente por el efecto sobre el daño mecánico a

565 los tejidos y las células, lo que provoca una mayor capacidad de extracción de los compuestos
566 fenólicos (Bai et al., 2022). Para polifenoles de la cebolla, la actividad antioxidante aumentó en
567 función de la temperatura (Roldán-Marín et al., 2009), mismo comportamiento para los
568 polifenoles de la fresa (Zhao et al., 2017).

569

570

571

572

573

574

575

576

577

578

579

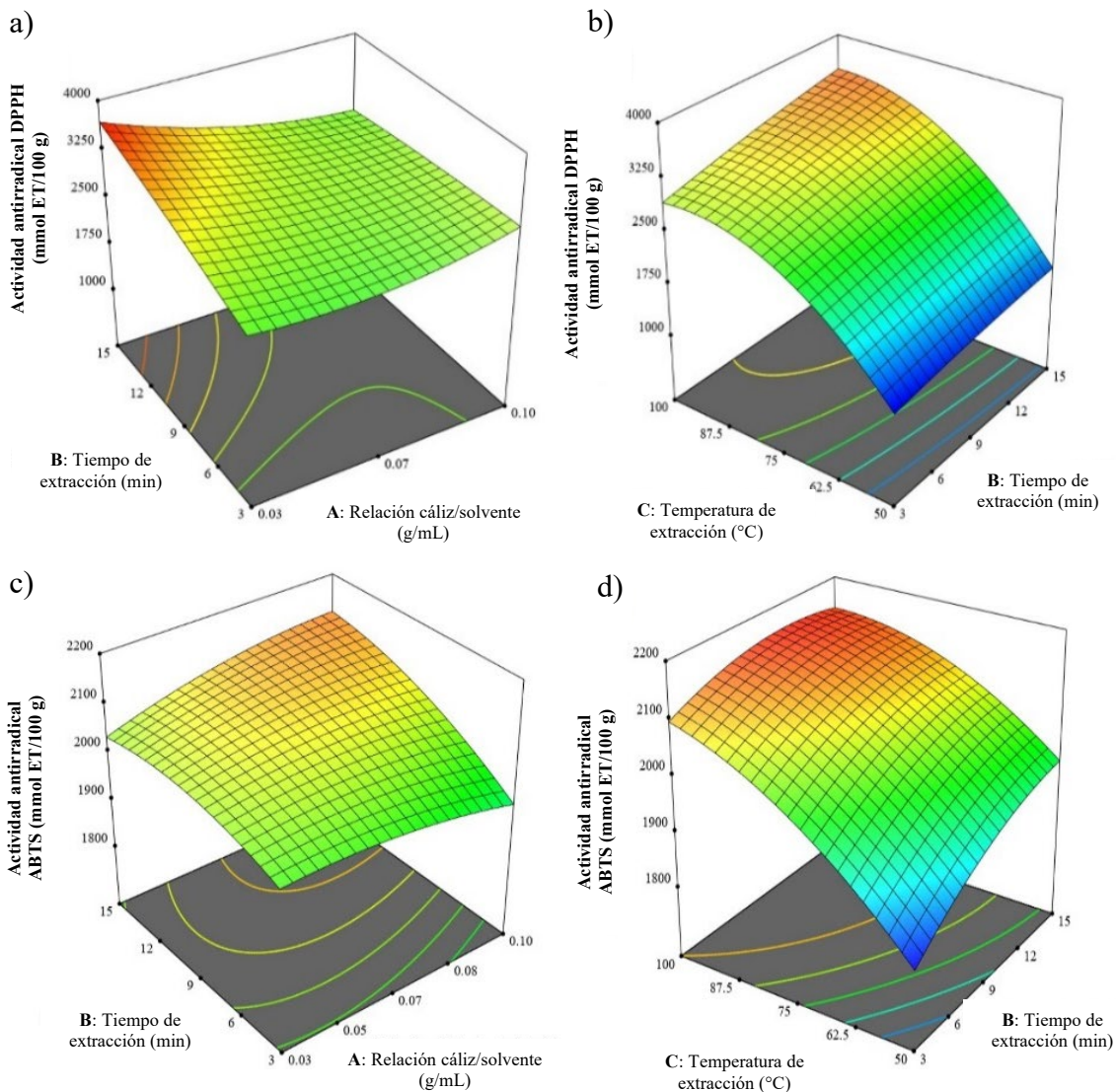
580

581

582

583 **Figura 12.** Superficie de respuesta 3D de actividad antirradical DPPH (a-b) y ABTS (c-d).

584



585 **6.1.4. Verificación de valores predictivos**

586 La optimización se refiere a los parámetros de extracción (factores de estudio) para obtener un
587 EHS con alta concentración de compuestos antioxidantes (polifenoles totales, flavonoides
588 totales, antocianinas monoméricas totales) y altas actividades antioxidantes (inhibición de
589 radicales DPPH y ABTS). Las condiciones óptimas son consideradas en función de la mayor
590 deseabilidad. Los modelos estadísticos utilizados para optimizar los parámetros son variables,
591 según las condiciones de cada estudio. En este estudio de extracción, el diseño obtenido tuvo una
592 deseabilidad de 0.884, similar a los reportados por Sanou, et al. (2023); Ahmed et al. (2023) &
593 Anaya-Esparza et al. (2023), para la obtención de extractos ricos en compuestos antioxidantes.
594 Las condiciones de optimización fueron de 0.03 g/mL (relación cáliz/solvente), 12.1 min y 91.6
595 °C para obtener el extracto. En la Tabla 8, se muestran los resultados basales y porcentajes de
596 asertividad del modelo RSM, observando predicciones de más del 92%, lo que podríamos
597 concluir que el modelo es confiable

598 **Tabla 8.** Caracterización antioxidante del extracto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) obtenido en condiciones óptimas

599

Variable de respuesta	Predicción	Resultado basal	% Asertividad
Antocianinas monoméricas totales (mg EC3G/100g)	1066 ± 32	990 ± 53	92.9
Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100g)	3290 ± 64	3195 ± 89	97.1
Flavonoides totales (mg EQ/100g)	949 ± 18	895 ± 25	94.3
Capacidad antioxidante (mmol ET/100g)			
ABTS	3934 ± 85	3799 ± 133	96.5
DPPH	2078 ± 14	1971 ± 57	94.9

600 **6.1.5. Actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)**

601 La capacidad de inhibir la enzima convertidora de angiotensina de los extractos se reporta como
602 porcentaje de IECA, donde se utilizó una solución control de Captopril 1.5 mg/mL (control) que
603 inhibe entre el 90 y el 100% de la concentración de ECA utilizada. El extracto de *Hibiscus*
604 *sabdariffa* optimizado bajo las condiciones de extracción. (30 mg/mL, 12.1 min y 92 °C) mostró
605 una inhibición de la ECA de 73.8%-79.2%. Valores superiores a lo reportado por Chaudhary et
606 al. (2020) quienes obtuvieron un porcentaje de inhibición del 58.89% para extracto de *Hibiscus*
607 *sabdariffa*, y quienes sugirieron que la actividad estaba directamente relacionada con la cantidad
608 de flavonoides, polifenoles, ácidos fenólicos, proteínas y ácido ascórbico contenidos en el
609 extracto.

610 El extracto HS presentó valores de antocianinas de 9.9 ± 0.53 mg EC3G/g muestra, compuestos
611 que se han relacionado con la disminución de actividad de la ECA. Ojeda et al. (2010)
612 determinaron que una fracción aislada de extracto HS, rica en antocianinas, inhibía el 52.01% y
613 sugirieron que la delfinidin-3-O-sambubiosido y la cianidin-3-O-sambubiosido, son sustancias
614 inhibidoras de la ECA que se encuentran en los cálices de *H. sabdariffa*, al competir por el sitio
615 activo de la enzima (Chakraborty & Roy, 2021; Ojeda et al., 2010).

616 Sin embargo, hay estudios donde mencionan que no sólo las antocianinas tienen un efecto
617 inhibidor, sino que también algunos otros flavonoides presentes (Vargas-León et al., 2018). En
618 este estudio se obtuvo una concentración de 8.95 ± 0.25 mg EQ/g muestra en el extracto HS. Al
619 Shukor et al. (2013), encontraron porcentajes de inhibición de flavonoles y flavanoles de 19% y
620 37%, respectivamente, demostrando la actividad de estos compuestos. En otro estudio, Chen et
621 al. (2019) mezclaron tres flavonoles (miricetina, quercetina y morín), y tuvieron mayores efectos
622 inhibidores sobre la actividad de la ECA, este comportamiento se lo atribuyeron al aumento de
623 grupos hidroxilo presentes en las estructuras de los flavonoles (Actis-Goretta et al., 2003;
624 Chakraborty & Roy, 2021). Chen et al. (2024) observaron una inhibición del 43%-47% en jugo
625 de granada rico en compuestos fenólicos, compuestos que generalmente contienen uno o más
626 grupos hidroxilo (-OH) unidos a un anillo aromático. Estos grupos OH y otros, como los grupos
627 carboxilo, pueden actuar como aceptores o donantes de enlaces de hidrógeno y aumentar la

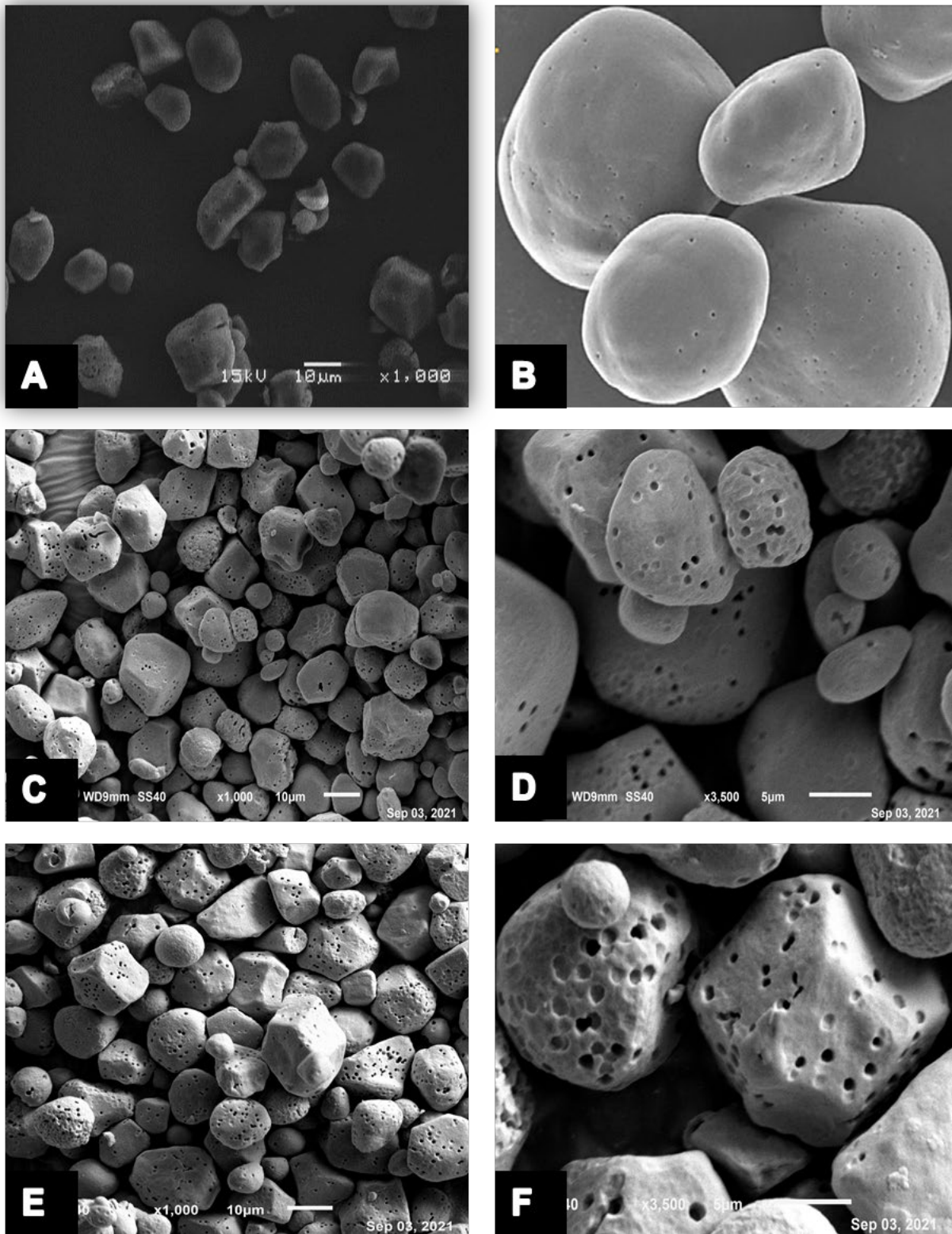
628 potencia inhibidora de la ECA (Calvo et al., 2022)

629 La actividad por parte de compuestos fenólicos sobre la inhibición ECA depende de diversas
630 interacciones, ya sea grupos hidrofóbicos (anillos del benceno) de unión a zinc (Al Shukor, et al.,
631 2013), formando quelatos con átomos de zinc en el centro activo o formando puentes de
632 hidrógeno entre moléculas inhibidoras y aminoácidos cerca o en los sitios de bolsillo activos
633 (Acharya et al., 2003). Estas interacciones dependen del enlace de hidrógeno del carbono, enlace
634 de hidrógeno convencional, van der Waals, interacción electrostática y otras (Chen et al., 2023).

635 **6.2.1. Hidrólisis enzimática de almidón de maíz**

636 Los gránulos de almidón hidrolizados enzimáticamente se estudiaron utilizando microscopía
637 electrónica de barrido (SEM). Esto se realizó para conocer la forma, estructura y características
638 de superficie de los gránulos de almidón antes y después del tratamiento con AA y AMG. A
639 partir de las micrografías, era evidente que la hidrólisis no ocurre de manera uniforme (Figura
640 13). Algunas áreas son mucho más susceptibles al ataque enzimático que otras. Los gránulos de
641 almidón nativo mostraron una forma irregular y en su mayoría poligonal con una superficie
642 relativamente lisa. En los gránulos de almidón de maíz modificado enzimáticamente durante 16
643 horas se presentó menor cantidad de poros en comparación con la hidrólisis durante 20 horas
644 (Figuras 13C-D y 13E-F respectivamente), y se observó una forma poliédrica, una superficie
645 rugosa y algunos gránulos nativos presentaron poros o canales, que han sido reportados por otros
646 autores (Ferrini et al., 2008; Huber & BeMiller, 2000). El tiempo de exposición de las enzimas
647 fue proporcional al grado de hidrólisis del almidón de maíz, resultando en mayor número de
648 poros y superficie erosionada (Figuras 13E y 13F), con distintos lugares de ataque. La hidrólisis
649 enzimática ataca tanto enlaces α -1,4 como α -1,6 de la amilosa y amilopectina, formando
650 compuestos de menor peso molecular: oligosacáridos y dextrinas, maltosas, glucosas, entre otros
651 (Zhang et al., 2012). Las enzimas causaron alteraciones superficiales y degradaron la parte
652 externa del gránulo. Aunque también actuaron en la parte interna del gránulo. Cuando los
653 gránulos de almidón se incuban con enzimas amilolíticas, las enzimas migran a través de los
654 canales y comienzan la hidrólisis que conduce a un patrón de digestión de adentro hacia afuera
655 (Guo et al., 2021).

656 Se observaron numerosos agujeros de diferentes tamaños, una erosión superficial y esponjosa,
657 diferentes lugares de hidrólisis tanto en la superficie como en la parte interna formando canales
658 en toda el área de los gránulos de almidón, comportamiento similar a lo reportado por Bouchet-
659 Spinelli et al. (2013). Aggarwal & Dollimore (2000), observaron un aumento en número y
660 volumen de poros, cuando aumentó la concentración de la amiloglucosidasa y el tiempo de
661 exposición (hidrólisis), hasta un rompimiento, resultando grandes agujeros de forma irregular y
662 una estructura disrupta. La diferencia de tamaño en los gránulos de almidón es un factor
663 importante que se relaciona con el área superficial, parámetro a considerar durante la
664 modificación enzimática, debido a que gránulos con menor tamaño (maíz) tienen mayor
665 superficie de contacto que los grandes (papa), esta diferencia podría tener influencia sobre la
666 susceptibilidad de los almidones a la hidrólisis enzimática (Espinosa-Solis et al., 2021). En este
667 mismo sentido, Guo et al. (2021) concluyeron que la presencia de poros y/o canales en los
668 gránulos de almidón (almidón de maíz), ayuda a la hidrólisis enzimática, facilitando el
669 movimiento y actividad enzimática hacia el interior del gránulo.



670 **Figura 13.** Micrografías por microscopía electrónica de barrido (x1000) de almidón nativo (A)
 671 (x1000) (B) (x3500) e hidrolizados enzimáticamente 16 horas (C) (x1000), (D) (x3500) y 20
 672 horas (E) (x1000), (F) (x3500)

673 **6.2.2. Capacidad de adsorción**

674 La propiedad de adsorción es una capacidad representativa del almidón poroso. Debido a esta
675 propiedad, el almidón poroso tiene diversas aplicaciones en la industria alimentaria,
676 principalmente como portador de ingredientes como polifenoles (Wu et al., 2023), aceites
677 esenciales (Ju et al., 2019), sabores (Belingheri et al., 2015) o colorantes (Chen et al., 2020). En
678 los últimos años, el almidón poroso se ha considerado un nuevo tipo de adsorbente
679 biodegradable.

680 La Tabla 9 muestra como la modificación enzimática dual con AA y AMG puede mejorar
681 significativamente la capacidad de adsorción de los almidones. El almidón poroso mostró una
682 mayor capacidad de adsorción de agua (1.3-1.4 veces) y aceite (1.5-1.6 veces) que el almidón
683 nativo ($p < 0.05$), debido al incremento de números y volumen de poros y durante la modificación
684 enzimática, cambios que se observaron en las micrografías por SEM. De acuerdo con
685 Keeratiburana et al. (2020) & Piloni et al. (2022), los tratamientos enzimáticos aumentaron la
686 superficie de los gránulos de almidón y la capacidad de adsorber moléculas de agua. También,
687 las dos enzimas produjeron poros profundos y anchos que facilitaron la entrada de aceites de alta
688 viscosidad al almidón (Witasari et al., 2024).

689 Del mismo modo, después de la modificación AA→AMG, la adsorción de azul de metileno y
690 rojo neutro aumentó 5 veces. Claramente, el tratamiento enzimático dual puede ofrecer un área
691 amorfa más grande y más cantidad de extremos no reductores para la hidrólisis (Gui et al., 2021),
692 lo que hace que aumente el área de superficie específica y el volumen de poros de los gránulos
693 de almidón, lo que conduce a un aumento evidente en las características de adsorción de los
694 almidones porosos (Han et al., 2021).

695 Además, la mayor capacidad de adsorción del almidón modificado puede atribuirse a un mayor
696 número de puntos de unión de los adsorbatos en el campo cristalino que contienen cadenas
697 ramificadas más cortas desarrolladas con la modificación, lo que resulta en un incremento en la
698 capacidad de adsorción (Chen et al., 2020; Lacerda et al., 2018).

699 **6.2.3. Calorimetría Diferencial de Barrido**

700 El tratamiento enzimático modificó significativamente las propiedades térmicas del almidón de
701 maíz, retrasando el proceso de gelatinización, presentando mayor temperatura de inicio con
702 diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre los almidones (Tabla 10). Se pueden
703 observar las temperaturas de inicio, pico y final más altas en las muestras de almidón poroso, en
704 comparación con los nativos.

705 Las temperaturas de transición más altas en las muestras tratadas enzimáticamente se han
706 explicado debido a los grados más altos de cristalinidad, que brindan estabilidad estructural y
707 hacen que los gránulos sean más resistentes a la gelatinización (Kaur et al., 2009). La
708 gelatinización de almidón es una transición endotérmica que corresponde a la disociación de
709 dobles hélices de amilopectina desde una estructura semicristalina a una conformación amorfa.
710 Las propiedades térmicas se ven afectadas en gran medida por la estructura final de la
711 amilopectina y el contenido de amilosa de los almidones (Srichuwong et al., 2007).

712 Por otro lado, Gui et al. (2021) informaron que la hinchazón de los gránulos de almidón más
713 grandes se produce a una temperatura más baja que la hinchazón de los gránulos de almidón más
714 pequeños; por lo tanto, es posible que, para los almidones tratados enzimáticamente, haya un
715 aumento en el número relativo de gránulos más pequeños después de la hidrólisis, lo que provoca
716 un aumento en la temperatura de gelatinización inicial. De acuerdo con Leyva-López et al.
717 (2019), la modificación enzimática con AA y AMG disminuyó el tamaño de partícula de los
718 gránulos modificados, lo que puede correlacionarse con estos resultados.

719 También en este estudio se puede observar que la entalpía de gelatinización (ΔH) aumentó para
720 los almidones hidrolizados. Los valores mayores de ΔH indican que los almidones porosos
721 requieren más energía para promover la gelatinización del almidón, es decir, la energía necesaria
722 para desenrollar las dobles hélices inestables durante la gelatinización (Sandhu & Singh, 2007).
723 Los valores de cambio de entalpía reflejan principalmente la pérdida del orden de doble hélice
724 en lugar de la pérdida de registro cristalino (Cooke & Gidley, 1992).

725 **6.2.4. Análisis Rápido de Viscosidad**

726 Siguiendo la caracterización de los almidones modificados se realizó el Análisis Rápido de
727 Viscosidad (RVA), y se observó una disminución en los valores de viscosidad (es decir,
728 viscosidad pico, viscosidad mínima y viscosidad final) en los almidones modificados
729 enzimáticamente en comparación con la contraparte nativa. Los valores de viscosidad pico para
730 los almidones modificados enzimáticamente fueron de 3738 ± 28 cP y 3763 ± 10 cP en los
731 tratamientos de 16 y 20 h respectivamente, en comparación con la parte nativa que fue de
732 4169 ± 41 cP presentando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) (Tabla 10). La
733 viscosidad pico se relaciona principalmente con los contenidos de amilosa, la distribución de la
734 longitud de las cadenas de amilopectina y componentes menores (Jane, 2006).

735 La α -amilasa afectó preferentemente los anillos de crecimiento amorfo (Benavent-Gil & Rosell,
736 2017). Los gránulos porosos son susceptibles a hidrólisis enzimática debido a su estructura, lo
737 que da como resultado suspensiones menos viscosas (Talou et al., 2011). La amilosa inhibe la
738 hinchazón de los gránulos de almidón, mientras que la amilopectina contribuye al hinchamiento
739 de los gránulos de almidón, especialmente las cadenas de ramas más largas (Tester & Morrison,
740 1990). Resultado de ello, es la marcada disminución de la viscosidad máxima en los almidones
741 modificados, y puede atribuirse a la pérdida de cierta cantidad de cadenas de ramificación durante
742 el proceso de hidrólisis, dando como resultado una menor hinchazón de los gránulos de almidón
743 durante la etapa de calentamiento (Park et al., 2018). Debe observarse que la viscosidad pico de
744 los almidones hidrolizados enzimáticamente por 16 y 20 horas fue 10% menor que el almidón
745 nativo; y la viscosidad final 12% menor.

746 Esta característica resultante después de la modificación va a ayudar a que el almidón hidrolizado
747 enzimáticamente se pueda aplicar como material portador en procesos posteriores. Ya que es
748 fundamental que los materiales pared presenten una baja viscosidad, permite el paso de
749 alimentación (flujo) cuando se obtienen las microcápsulas mediante secado por aspersión.

750 **Tabla 9.** Parámetros de adsorción en almidones modificados enzimáticamente

Almidón de maíz	Capacidad de Adsorción			
	Agua (%)	Aceite (%)	Azul de metileno (mg/g)	Rojo neutro (mg/g)
Nativo	138.5±10.1 ^a	166.61±13.5 ^a	10.69±0.51 ^a	9.18±0.4 ^a
HE16	182.3±10.6 ^b	259.8±15.07 ^b	49.05±3.35 ^b	45.02±3.14 ^b
HE20	194.4±11.5 ^b	267.4±14.34 ^b	53.89±4.33 ^b	49.39±4.15 ^b

751 ¹Los datos son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, superíndices diferentes por columna representan diferencias estadísticas
752 significativas (P<0.05). HE16: Hidrolizado enzimáticamente durante 16 horas. HE20: Hidrolizado enzimáticamente durante 20 horas.
753

754

755

756

Tabla 10. Parámetros de análisis de perfil térmico mediante DSC¹ y de análisis de perfil de viscosidad mediante uso del RVA¹ en

757 almidones modificados enzimáticamente y nativos

Almidón de maíz	Temperatura de gelatinización (°C)			ΔH (J/g)	Viscosidad (cP)		Temperatura pasting (°C)	Tiempo pico (min)
	Inicial	Pico	Conclusión		Pico	Final		
Nativo	64.52±0.51	72.43±0.36 ^a	76.29±0.43	10.30±0.4 ^a	4169±41 ^a	4652±22 ^a	78.05±0.43 ^a	4.98±0.04 ^a
HE16	69.42±0.25	73.08±0.16 ^b	79.36±0.53	17.83±0.44 ^b	3738±28 ^b	4090±11 ^b	78.28±0.03 ^a	4.91±0.03 ^a
HE20	69.31±0.23	73.15±0.25 ^b	78.7±0.52	18.63±0.48 ^b	3763±10 ^b	4107±9 ^b	78.07±0.49 ^a	4.93±0.07 ^a

758 ¹Los datos son las medias de tres repeticiones ± desviación estándar, superíndices diferentes por columna representan diferencias estadísticas
759 significativas (P<0.05). HE16: Hidrolizado enzimáticamente durante 16 horas. HE20: Hidrolizado enzimáticamente durante 20 horas.

760 **6.3. Microcápsulas**

761 Los resultados del ANOVA y los coeficientes de regresión para el modelo se muestran en la
762 Tabla 11. No se muestran las variables con términos no significativos. El nivel de significancia
763 de todos los términos fue de 0.05. Fue observado que el modelo cuadrático tiene valores máximos
764 de “R² ajustado” de ~ 0.9, lo que indica un alto ajuste a las variables de respuesta. Las ecuaciones
765 matemáticas en este estudio que correlacionan las variables de temperatura de entrada (TE),
766 concentración de sólidos totales (CST), y la relación APM-GA, fueron obtenidas mediante un
767 ANOVA, y cada variable respuesta en este estudio es discutida por separado.

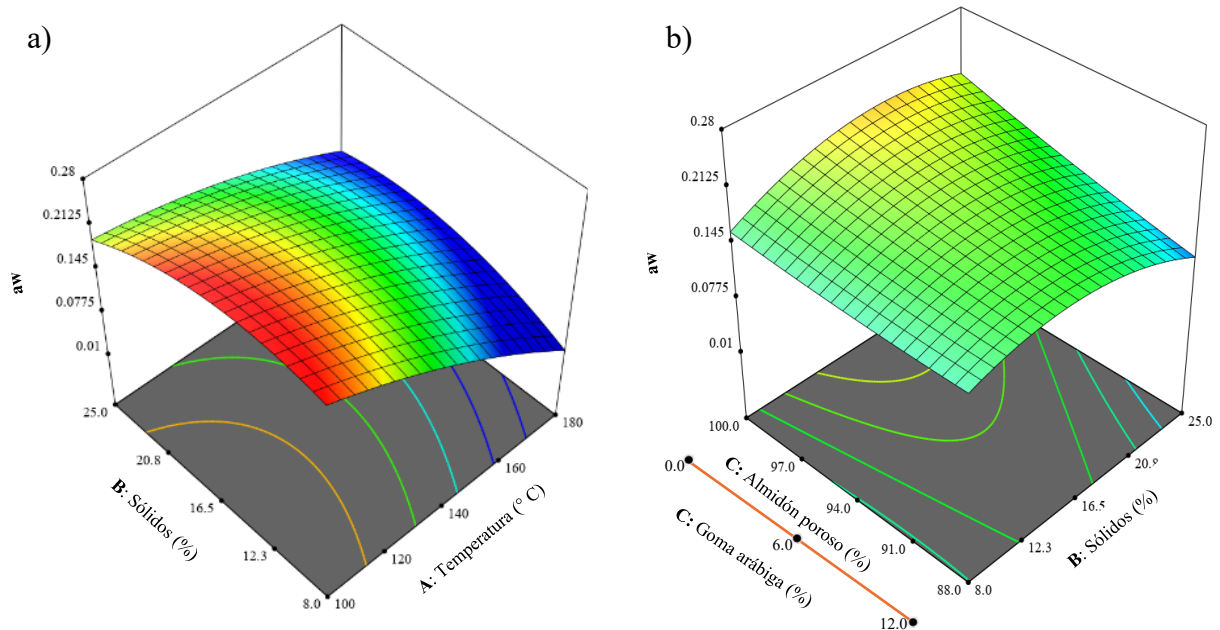
768 **6.3.1. Actividad de agua**

769 La actividad de agua (a_w) es una de las propiedades fisicoquímicas indispensable a medir en
770 compuestos encapsulados, ya que bajos valores de a_w contribuyen a prolongar la vida útil y
771 establecer las condiciones de almacenamiento de los encapsulados (Baysan et al., 2019). La a_w
772 mostró valores en un intervalo de 0.108 a 0.24 (Tabla 12), estudios muestran que valores de a_w
773 < 0.3 , aseguran una mayor estabilidad (vida de anaquel) (Tan et al., 2015). De acuerdo con los
774 resultados del análisis estadístico, esta respuesta está en función de los términos lineales de TE
775 (A), en términos cuadráticos de TE (A^2), CST (B^2) y de la interacción entre TE vs CST (AB); y
776 de CST vs relación APM-GA (BC) con una significancia de $p < 0.05$ (Tabla 11).

777 En las Figuras 14a y b, se muestra las interacciones de CST vs TE y de relación APM-GA vs
778 CST, observando como los valores de a_w disminuyen al aumentar TE (Fig. 14a). A medida que
779 se aumenta TE, aumentan los coeficientes de transferencia de masa y calor (gradiente de
780 temperatura), lo que podría estar provocando una pérdida de humedad en el material pared lo que
781 impacta en la reducción de la a_w en el producto obtenido (encapsulado) (Geranpour et al., 2019).
782 Similar comportamiento fue reportado por Arepally & Goswami (2019), en la encapsulación de
783 aceite de semilla de calabaza usando secado por aspersión, donde utilizaron una mezcla de goma
784 arábica y maltodextrina como material pared. La ecuación de regresión en este estudio también
785 demostró que la a_w fue ligeramente menor en las microcápsulas a medida que disminuyó la
786 concentración APM-GA (Fig. 14b). Sin embargo, también se observó un ligero incremento en la
787 a_w entre las CST de ~12% a ~20% a 100 °C. Comportamiento inverso observado en la relación

788 APM-GA vs CST, donde se muestra una ligera reducción de la a_w con la disminución de la
789 concentración APM, en donde la concentración de sólidos parece no jugar un papel importante.
790 Ahad et al. (2021), reportan similar comportamiento atribuyéndolo a que el incremento de a_w
791 está relacionado a la capacidad de retención y absorción de agua del material pared debido a su
792 afinidad por acomplejar con el agua, esto es debido a que un incremento de sólidos y bajas
793 temperaturas dentro de la cámara de secado crea una atmósfera saturada en las partículas, lo que
794 dificulta la eliminación de agua. Sin embargo, es notorio que la temperatura de entrada en un
795 proceso de encapsulación juega un papel muy importante en los valores de a_w del material
796 resultante. Los coeficientes de determinación R^2 y de R^2 ajustada fueron de 0.92 y 0.905,
797 respectivamente, lo que demuestra que el modelo de regresión explica adecuadamente el efecto
798 de las variables independientes sobre la a_w ; es decir, más del 92% de la variabilidad puede ser
799 explicada por MSR.

800



801

802

803 **Figura 14.** Superficie de respuesta 3D de a_w en función de la temperatura de entrada y
804 concentración de sólidos (a) y de concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica
805 (b).

806 **Tabla 11.** Análisis de varianza del modelo polinómico cuadrático ajustado

Términos	a_w	PT	FT	AMT	AA DPPH	EE	Estabilidad^c
Intercept	0.1884	1478.600	427.473	903.635	383.810	85.687	25.739
A	-0.0459*	-94.387*	-28.174*	-37.075*	-11.601*	2.543*	-
B	-	-66.692*	-21.431*	14.417*	-40.769*	-2.914*	-2.916*
C	0.0120*	36.778*	10.220*	7.211*	-3.708*	3.967*	-2.847*
AB	0.0094*	268.351*	77.967*	57.235*	-	-	-3.784*
AC	-	-184.884*	-51.132*	-30.317*	-	-	-
BC	0.0060*	-140.848*	-40.145*	50.296*	19.161*	1.768*	-
A ²	-0.0059*	-	-7.616*	11.984*	-6.929*	-2.969*	1.392*
B ²	-0.0115*	359.244*	102.208*	-	-6.995*	-2.504*	2.925*
C ²	-	-	-	11.167*	-7.944*	-1.932*	2.947*
Residual	0.0089	464500	3020206	17739.03	5964.22	159.55	130.84
R ²	0.92	0.953	0.963	0.932	0.938	0.927	0.93
R ² Ajustada	0.905	0.945	0.956	0.919	0.926	0.914	0.918
F	63.99	143.20	112.90	75.63	83.46	70.57	74.02
p-valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.3873	<0.0001
Ajuste	160	61.88	16.28	4.15	20.93	1.07	10.23

807 Los valores de p inferiores a 0.05 son significativos y se muestran en negrita (*).

808 Los valores de p mayores o iguales a 0.10 se consideran insignificantes y no se muestran en el texto (-).

809 A: Temperatura de entrada (°C), B: Concentración de sólidos (%), C: Almidón poroso (%), DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo.

810 **Tabla 12.** Diseño experimental de secado por aspersión de extracto de *Hibiscus sabdariffa* L

Parámetros independientes					Parámetros dependientes					
Ta entrada	Sólidos	Almidón	a_w	Compuesto s fenólicos totales (PT)	Flavonoides totales (FT)	Antocianinas monoméricas totales (AMT)	Actividad antirradical DPPH	Eficiencia de encapsulació n (EE)	Estabilidad°	
(°C)	(%)	(%)		(mg EAG/ 100g)	(mg EQ/ 100g)	(mg EC3G/ 100g)	(μ mol ET/ g)	%	%	
1	116	11.4	90.4	0.24±0.001	1863±39	536.4±3.3	1018±22	445.4±2.9	77.63±0.57	35.6±1.9
2	164	11.4	90.4	0.12±0.003	1537±45	436.7±5.9	884±7	423.5±0.7	81.79±2.35	40.1±1.9
3	116	21.6	90.4	0.2±0.002	1629±19	467.6±3.3	831±20	323.2±1.1	67.31±1.79	36.9±1.4
4	164	21.6	90.4	0.115±0.004	2236±38	635.6±9.4	910±18	299.4±6.7	72.68±2.22	29±0.8
5	116	11.4	97.6	0.236±0.001	2652±45	759.9±10.1	1009±9	411.1±4.7	80.5±1.92	29.9±0.3
6	164	11.4	97.6	0.113±0.003	1446±60	411.5±14.2	738±3	360.1±0.7	86.38±1.78	39.0±1.1
7	116	21.6	97.6	0.218±0.005	1714±38	486.3±9.4	1008±14	359.7±5.3	77.02±2.08	32.8±1.2
8	164	21.6	97.6	0.134±0.002	1721±27	493.9±6.7	981±16	318.4±9.9	84.57±2.1	24.0±0.6
9	100	16.5	94	0.234±0.002	1465±25	420.7±6.3	981±20	362.1±4.9	73.5±1.04	28.7±1.2
10	180	16.5	94	0.108±0.001	1244±126	353.9±12.4	889±2	350.0±7.5	80.5±1.64	29.5±1.6
11	140	8	94	0.139±0.002	2637±104	766.8±7.6	851±12	420.5±3.5	82.8±2.25	38.8±1.2
12	140	25	94	0.173±0.002	2213±45	629.1±11.2	920±11	291.2±5.4	73.83±1.61	28.1±1.2
13	140	16.5	88	0.151±0.002	1291±33	370.9±5.0	931±5	355.7±1.9	72.46±0.74	40.3±0.7
14	140	16.5	100	0.232±0.001	1431±41	409.1±11.6	934±0	350.7±7.0	87.4±1.72	26.7±0.3

15	140	16.5	94	0.185±0.008	1403±21	425.3±3.7	913±1	386.9±4.2	86.14±1.49	24.7±0.6
16	140	16.5	94	0.185±0.004	1569±41	442.1±6.9	910±12	377.4±2.8	85.1±2.42	26.2±0.9
17	140	16.5	94	0.191±0.003	1498±21	428.3±5.9	909±12	375.3±2.8	84.98±2.15	25.8±0.4
18	140	16.5	94	0.192±0.003	1462±41	421.7±5.4	913±16	384.4±1.2	85.92±2.5	25.2±1.1
19	140	16.5	94	0.187±0.004	1522±71	433.2±12.3	865±9	393.9±0.6	85.63±2.09	27.4±1.0
20	140	16.5	94	0.189±0.002	1438±41	420.4±4.7	909±14	387.6±1.6	86.45±0.98	25.3±0.3

811 DPPH: Actividad antirradical 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, EAG: Equivalentes de ácido gálico, EQ: Equivalentes de quercetina, EC3G:
812 Equivalentes cianidina-3-glucósido.
813 °: Estabilidad de antocianinas monoméricas totales almacenadas durante 8 semanas a 55°C y 52.86% HR.

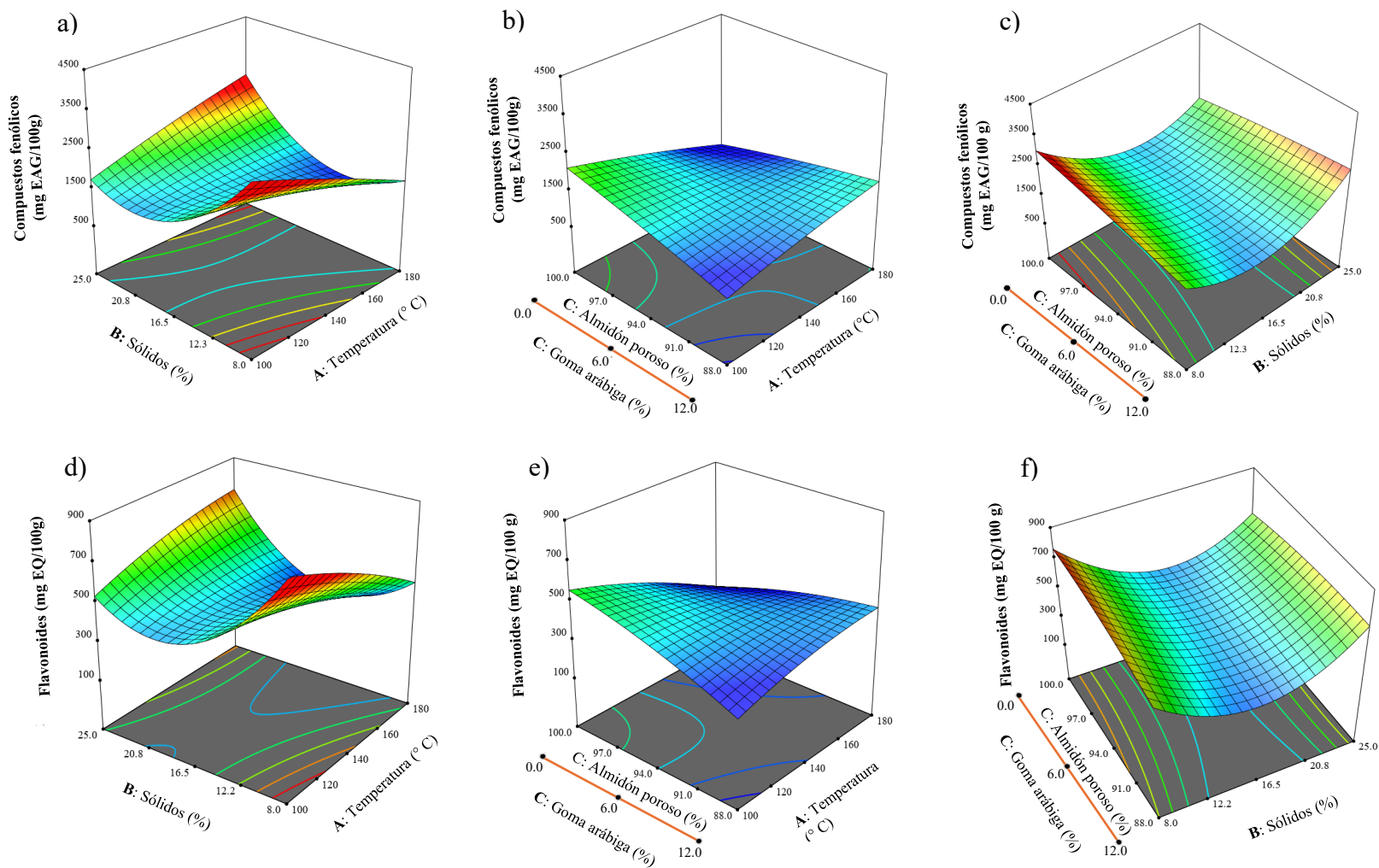
814 6.3.2. Compuestos fenólicos totales y flavonoides totales

815 CPT y FT fue mayor a medida que disminuyó TE, CST y conforme aumentó la relación APM-
816 GA. De acuerdo con los resultados del análisis estadístico, las concentraciones fueron de 1244 a
817 2652 mg EAG/100g y de 353.9 a 766.8 mg EQ/100g para CPT y FT respectivamente (Tabla 12).
818 Los contenidos de estos compuestos en las microcápsulas están en función de los términos
819 lineales para las variables A, B y C; y de las interacciones AB, BC y AC, para ambos factores y
820 en términos cuadráticos de CST (B^2) para CPT, así como TE (A^2) y CST (B^2) para FT, con una
821 significancia de $p < 0.05$ (Tabla 11).

822 En las Figuras 15a y 15d, respecto a las variables CST vs TE para los compuestos antioxidantes
823 (fenólicos y flavonoides), se observó un comportamiento similar, una disminución de
824 compuestos con el incremento de la TE. Este comportamiento es debido a la pérdida gradual de
825 los compuestos bioactivos, provocada por la oxidación y/o degradación, ya que estos son
826 sensibles a los cambios de temperatura (Tolun et al., 2016). Similar comportamiento fue por
827 reportado por Lingua et al. (2020), un aumento de temperatura de secado de 120°C a 160°C
828 disminuyó en un 20% el contenido de polifenoles en el extracto de arándano microencapsulado
829 con maltodextrina. Estas Figuras (15a y 15d), también muestran que la CST juega un rol
830 importante en el efecto de la protección de compuestos, ya que a concentraciones de ~16% a
831 ~22%, se observa el menor contenido de compuestos, a una temperatura fija. Pero el valor más
832 alto de CST (25%) y mayor TE se observó el mayor contenido de compuestos bioactivos. Esto
833 pudiera estar relacionado a la alta CST, lo que podría provocar un mayor atrapamiento químico
834 o físico de los compuestos bioactivos en el material pared debido a un incremento en el espesor
835 por el incremento sólidos (APM-GA), o también puede ser debido a una mayor aglomeración de
836 las microcápsulas (Figuras 15D y 15F), lo que podría estar causando una liberación contralada
837 por el efecto barrera de las microcápsulas contiguas una a otra.

838 En las Figuras 15b y 15e, se analizan las variables APM-GA vs TE, para el contenido de CPT y
839 FT. En ambas figuras se observa que concentraciones bajas de APM y TE de 100 °C, influyen
840 en el contenido de estos compuestos, esto puede estar relacionado con el gráfico de a_w (Fig. 14a),
841 donde se observa que bajas temperaturas favorece el contenido de humedad, y altos contenidos
842 de humedad favorecen las reacciones de degradación de los compuestos bioactivos (Méndez-

843 Lagunas et al., 2017), y las bajas concentraciones de APM podrían estar influenciando el espesor
844 del material pared, lo que podría dejar más expuestos a los compuestos a los altos contenidos de
845 agua. Estos mismos gráficos fueron mostraron que un aumento en la relación APM-GA (97-3%
846 y 100-0%) y TE de 100 °C, favorecen una mayor retención de CPT y FT. Este comportamiento
847 es debido precisamente al aumento de APM, y con ello un incremento en el área de contacto
848 debido a los poros (Fig. 20A), lo que incrementa el área superficial, favoreciendo la entrada de
849 los compuestos en ellos, incrementando su retención mediante interacciones químicas por
850 puentes de hidrógeno (Asrafi et al., 2024; Belingheri et al., 2015; Zhang et al., 2012), en donde
851 también la GA podría estar actuando como cobertura de los poros favoreciendo su retención,
852 como se observa en la Figura 20B (incrementado, parte superior derecha), en donde se observa
853 como los poros en el almidón son recubiertos. Un estudio similar fue reportado por Oliyaei et al.
854 (2020), donde encapsularon fucoxantina con almidón poroso y GA como agente de recubrimiento
855 y obtuvieron una alta capacidad de adsorción. También se analizó la relación APM-GA vs CST
856 en la protección de CPT y FT (Figuras 15c y 15f), en ambos gráficos se observa que a intervalos
857 de ~12% a ~20% de CST, se presenta una menor concentración de estos compuestos. Sin
858 embargo, a valores menores o mayores de este intervalo, la concentración de CPT y FT
859 incrementaron. También fue observado que la relación APM-GA en estas mismas variables de
860 estudios afecto ligeramente, ya que se observa una ligera disminución de estos compuestos
861 conforme disminuye APM. Este comportamiento sobre la protección de CPT y FT, por los
862 factores de relación APM-GA vs CST, este último muestra tener más influencia sobre el
863 contenido de estos compuestos bioactivos en las microcápsulas. Los coeficientes de
864 determinación R^2 fue de 0.953 y 0.963, así como R^2 ajustado de 0.945 y 0.956 para CPT y FT,
865 respectivamente (Ver Tabla 11). Estos valores demuestran que el modelo de regresión explica
866 adecuadamente el efecto de las variables independientes sobre los compuestos fenólicos; es decir,
867 más del 95% de la variabilidad puede ser explicada por MSR.



869 **Figura 15.** Superficie de respuesta 3D de compuestos fenólicos totales (a-c) y flavonoides totales (d-f), en función de la temperatura
870 de entrada (A), la concentración de sólidos (B) y la relación almidón: goma arábica (C).

871 6.3.3. Antocianinas monoméricas totales

872 La concentración de AMT mostró valores en un intervalo de 738 a 1018 mg EC3G/100g (Tabla
873 12). De acuerdo con los resultados del análisis estadístico, mostrados en la Tabla 11, las variables
874 en estudio muestran que están en función de los términos lineales para A, B y C; de las
875 interacciones entre los factores (AB, BC y AC) y de los términos cuadráticos TE (A^2) y relación
876 APM-GA (C^2), con una significancia de $p < 0.05$.

877 En los gráficos de superficie de respuesta (Figuras 16^a y 16b), se observa una reducción en el
878 contenido de AMT en las microcápsulas conforme se incrementó TE. Este comportamiento se
879 atribuyó a la degradación térmica y oxidación de los compuestos bioactivos (Enaru et al., 2021).
880 Mismo comportamiento fue reportado por Murali et al. (2015), donde estudiaron la
881 microencapsulación de extracto de zanahoria negra utilizando almidón de tapioca, goma arábiga
882 y maltodextrina como material pared y por Das et al. (2019) en la microencapsulación de extracto
883 de antocianinas de arroz morado con almidón modificado de arroz.

884 En las Figuras 16b y 16c, se analizan las variables relación APM-GA con respecto a TE y CST
885 respectivamente. Una alta concentración de APM (>96%) favorece la protección de AMT, este
886 comportamiento puede deberse a una compatibilidad química favoreciendo la formación enlaces
887 por puentes de hidrógeno con los extractos encapsulados (Davidov-Pardo et al., 2013), lo que da
888 estabilidad y protección. Patel et al. (2020) encapsularon antocianinas utilizando almidón de
889 semilla de yaca, observando que el incremento de la concentración de almidón como material
890 pared provocó un aumento en el contenido de AMT. Este comportamiento podría atribuirse
891 principalmente a la mejora de las propiedades de sellado de las microcápsulas debido a una mayor
892 CST, que da como resultado una estructura más compacta y a su superficie con menor cantidad
893 de poros, lo que ralentiza la difusión del calor (Liu et al., 2023). Por otro lado, Robert et al.
894 (2010), reportaron que el incremento de sólidos (almidón) conlleva a mayores cadenas de amilosa
895 y amilopectina que interactúan por compatibilidad química con las antocianinas de extracto de
896 granada encapsulado favoreciendo la retención. En este estudio el aumento de CST (20-25%) y
897 de APM, favorecen la protección de AMT, lo que incrementa su concentración. Este este
898 fenómeno puede ser explicado por lo descrito anteriormente, favoreciendo la protección de
899 antocianinas de las condiciones del ambiente, disminuyendo su velocidad de degradación

900 (Frascareli et al., 2012; Patel et al., 2020). Los coeficientes de determinación R^2 y R^2 ajustado
901 fueron de 0.932 y 0.919 respectivamente (Tabla 11).

902

903

904

905

906

907

908

909

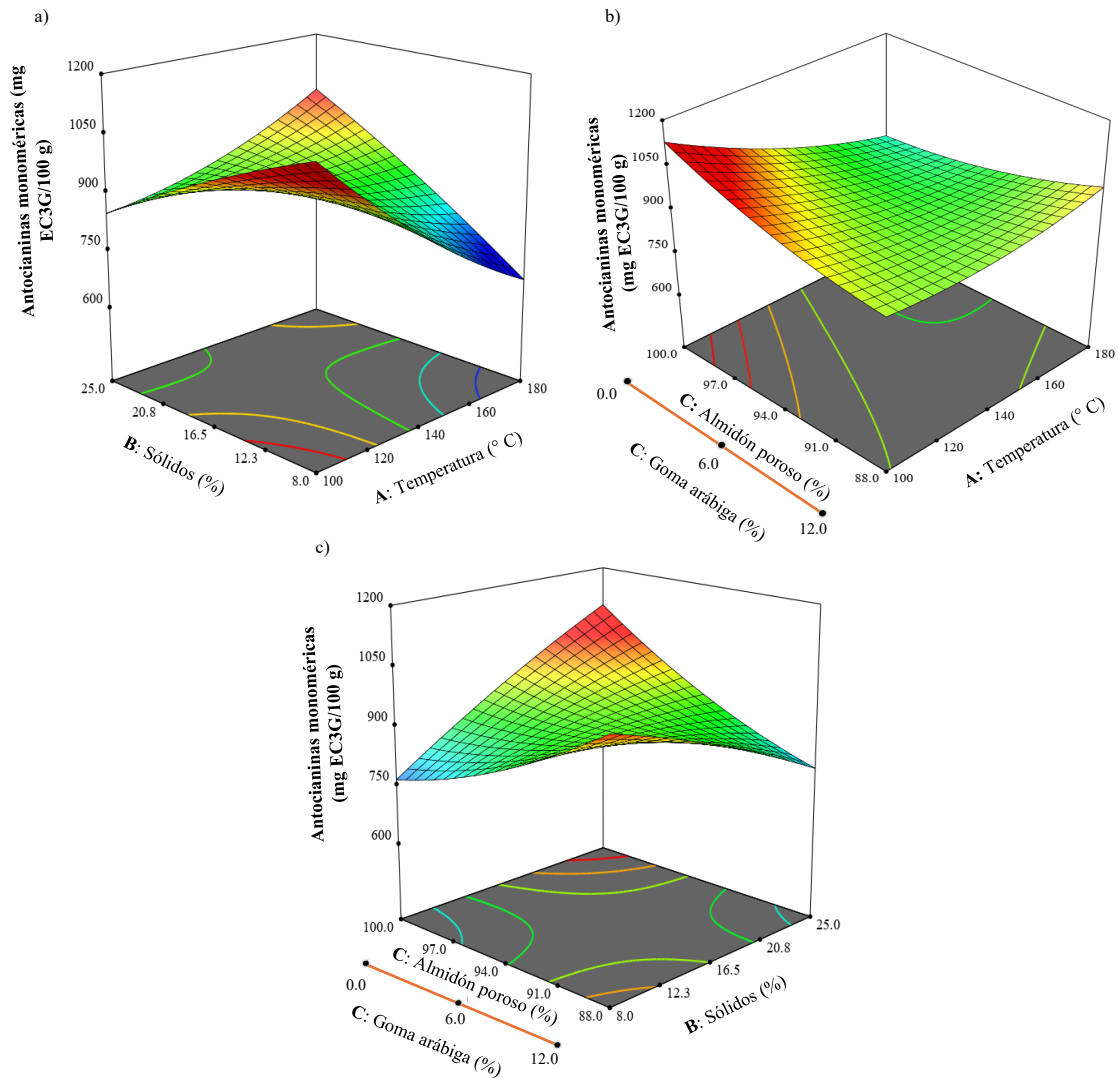
910

911

912

913

914



915 **Figura 16.** Superficie de respuesta 3D de antocianinas monoméricas totales en función de la
916 temperatura de entrada y concentración de sólidos (a), de temperatura de entrada y relación
917 almidón: goma arábica (b), y de concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica
918 (c).

919

920

921

922

923 6.3.4. Actividad antirradical DPPH

924 El ensayo DPPH evalúa el potencial de eliminación de radicales libres de una molécula
925 antioxidante y se considera uno de los métodos estándar para la evaluación de las propiedades
926 antioxidantes de granos, vegetales, extractos y harinas en diferentes sistemas de solventes
927 (Gulcin & Alwasel, 2023; Mishra et al., 2012). La actividad antirradical DPPH mostró valores
928 en un intervalo de 291 a 445 $\mu\text{mol ET/g}$ (Tabla 12). De acuerdo con el análisis estadístico, los
929 coeficientes de determinación R^2 y R^2 ajustada fueron de 0.938 y 0.926. Esta variable de
930 respuesta muestra que está en función de los términos lineales para A, B y C; de la interacción
931 entre los factores (BC) y de los términos cuadráticos TE (A^2), CST (B^2) y relación APM-GA
932 (C^2), con una significancia de $p < 0.05$ (Tabla 11).

933 En la Figura 17, se muestra la interacción entre la relación APM-GA vs CST, observando que la
934 actividad antirradical DPPH es mayor a concentraciones bajas de CST (8% - 12%) y APM-GA
935 (91% - 88%). Las microcápsulas formadas con la mezcla APM-GA tienen una alta capacidad
936 antioxidante, y es mayor conforme aumenta la concentración de GA en la mezcla, lo que indica
937 una mayor protección. Esto se puede relacionar con las características estructurales de los
938 radicales libres y las interacciones químicas con el almidón-GA (de Araújo et al., 2020). Similar
939 comportamiento fue reportado por Laureanti et al. (2023) donde encapsularon la mezcla de
940 extracto de pimienta rosa (*Schinus terebinthifolius*) con extracto de propóleo verde (*Baccharis*
941 *dracunculifolia* DC) y se observó que el material pared GA-maltodextrina resultó en un aumento
942 de aproximadamente 31% en la inhibición del radical DPPH, en comparación con el control
943 (maltodextrina).

944

945

946

947

948

949

950

951

952

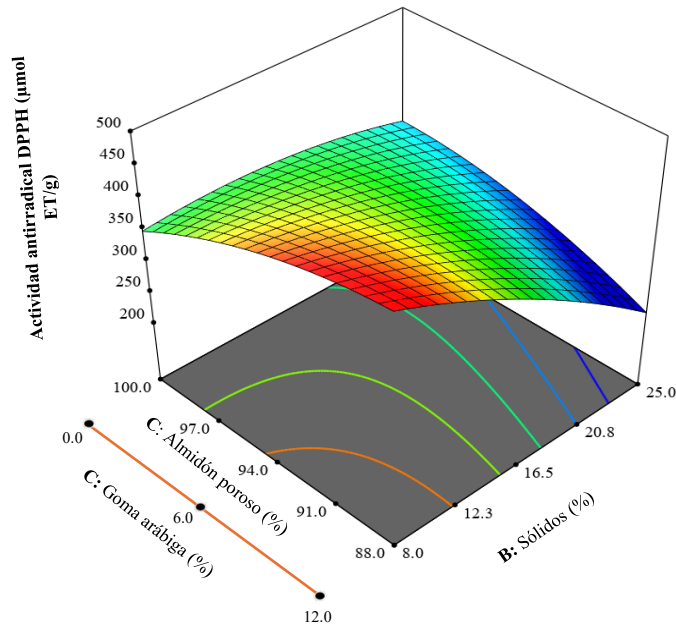
953

954

955

956

957 **Figura 17.** Superficie de respuesta 3D de actividad antirradical DPPH en función de la
958 concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica.



956

957 **Figura 17.** Superficie de respuesta 3D de actividad antirradical DPPH en función de la
958 concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica.

959 6.3.5. Eficiencia de encapsulación (EE)

960 La EE es la capacidad del proceso de encapsulación independientemente de la estabilidad
961 mejorada de las microcápsulas al reducir la degradación de los compuestos antioxidantes
962 (Etzbach et al., 2020). Según los resultados de la Tabla 12, la EE osciló entre 67.31% y 87.40%,
963 valores similares fueron reportados por (Rosales-Chimal et al., 2023; Santana et al., 2016).

964 De acuerdo con el análisis estadístico, los coeficientes de determinación R^2 y R^2 ajustada fueron
965 de 0.927 y 0.914, respectivamente; y la EE está en función de los términos lineales A, B y C; de
966 los términos cuadráticos A^2 , B^2 y C^2 y de la interacción CST vs relación APM-GA (BC), con una
967 significancia de $p < 0.05$ (Tabla 11).

968 En la Figura 18, se observa que la EE aumentó cuando la concentración de APM fue mayor con
969 una CST de ~16%. El APM mezclado con la GA presentan una estructura ramificada con cadenas
970 largas lo que puede contribuir a su alta eficiencia (Carneiro et al., 2013) y podría asociarse con
971 la estructura química de los compuestos bioactivos, favoreciendo las interacciones por puentes
972 de hidrógeno (Navarro-Flores et al., 2020). Estudios similares presentaron Santana et al. (2016),
973 donde reportaron las mayores eficiencias de encapsulación (80%-99%) de antocianinas, se

974 obtuvieron utilizando una mezcla ternaria de goma arábica/ almidón modificado/ proteína de soja
975 como material pared. En este mismo gráfico se observa que la CST juega un rol importante, ya
976 que bajas concentraciones favorecen la EE. Según lo reportado por Corrêa-Filho et al. (2019),
977 esto puede ser debido a que, a bajas concentraciones de sólidos baja viscosidad del fluido de
978 alimentación en el secador lo que provoca a una mayor tasa de evaporación del agua favoreciendo
979 la pérdida de humedad del producto final.

980

981

982

983

984

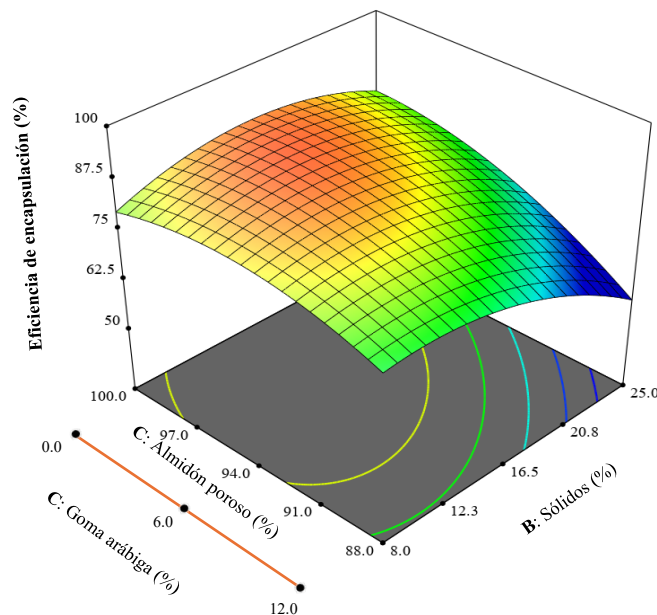
985

986

987

988

989 **Figura 18.** Superficie de respuesta 3D de eficiencia de encapsulación en función de la
990 concentración de sólidos y relación almidón: goma arábica.



987

988

991 6.3.6. Estabilidad de antocianinas (Retención)

992 El porcentaje de retención de AMT es la concentración basal (tiempo 0) menos el contenido
993 determinado a las 8 semanas de almacenamiento bajo condiciones de 55 °C y 52.86% HR. La
994 Tabla 12 muestra un intervalo de retención de 24% a 40%, valores similares a lo reportado por
995 (Leyva-López et al., 2019; Rosales-Chimal et al., 2023).

996 De acuerdo con el análisis estadístico, los coeficientes de determinación R^2 y R^2 ajustada fueron
997 de 0.93 y 0.918, respectivamente, lo que resulta el MSR y explica adecuadamente el efecto de
998 los factores de estudio sobre la estabilidad de AMT. Esta variable de respuesta está en función
999 de los términos lineales B y C; de los términos cuadráticos A^2 , B^2 y C^2 y de la interacción TE vs

1000 CST (AB), con una significancia de $p < 0.05$ (Tabla 11).

1001 En la Figura 19, se muestra que la estabilidad aumentó cuando la TE fue mayor y la CST
1002 disminuyó. Las altas temperaturas y una menor CST provocan una rápida evaporación del agua
1003 de la superficie de la partícula, lo que puede contribuir a la rápida formación de las microcápsulas
1004 y una membrana firme que reduce la migración (lixiviación) de los compuestos bioactivos a la
1005 superficie encapsulada y penetración del calor en las gotas durante el tiempo de almacenamiento
1006 (Aghbashlo et al., 2013; Corrêa-Filho et al., 2019; Das et al., 2019).

1007

1008

1009

1010

1011

1012

1013

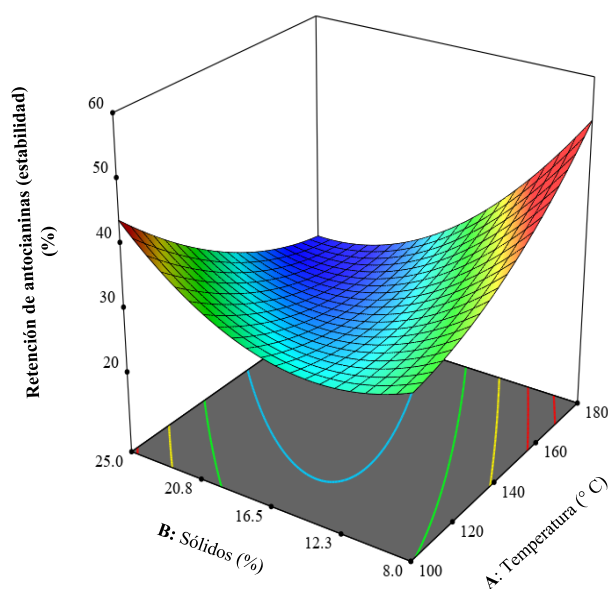
1014

1015

1016 **Figura 19.** Superficie de respuesta 3D de retención de antocianinas en función de la temperatura
1017 de entrada y la concentración de sólidos.

1018 6.3.7. Optimización

1019 La optimización se refiere a los parámetros de secado por aspersión para obtener microcápsulas
1020 con alta retención de CPT, FT y AMT, alta actividad antioxidante (DPPH), alta estabilidad, EE
1021 y baja a_w . Las condiciones óptimas son consideradas en función de la mayor deseabilidad. Los
1022 modelos estadísticos utilizados para optimizar los parámetros son variables, según las
1023 condiciones de cada estudio. En este estudio de secado por aspersión, el diseño obtenido tuvo
1024 una deseabilidad de 0.839, similar a los reportados por Balasubramani et al. (2013), Başıyigit et
1025 al. (2020) y Rosales-Chimal et al. (2023), para la obtención de microcápsulas. Las condiciones



1026 de optimización fueron de 126 °C de TE, 8.5% de CST, y de 92% APM–8% GA, en la obtención
1027 de los microencapsulados. En las micrografías se pueden observar diferentes gránulos de almidón
1028 con agujeros abundantes y bien formados (Fig. 20A). Sin embargo, una vez que este almidón en
1029 mezcla con GA fue utilizado en la microencapsulación bajo las condiciones óptimas, un patrón
1030 general fue observado, el cual fue más notorio bajo estas condiciones de optimización, en la
1031 Figura 20B (ampliación en la parte superior derecha a 2000X), se muestra como los poros son
1032 cubiertos por la GA, lo que estaría proporcionando un mejor efecto protector a los compuestos
1033 bioactivos encapsulados, resultando en una mayor estabilidad bajo condiciones ambientales, ya
1034 que en los poros podrían estar atrapando física y/o químicamente a los compuestos bioactivos
1035 incrementado su viabilidad. En la Tabla 13, se muestran los resultados basales y porcentajes de
1036 asertividad del modelo RSM, observando predicciones de más del 90%, lo que podríamos
1037 concluir que el modelo es confiable.

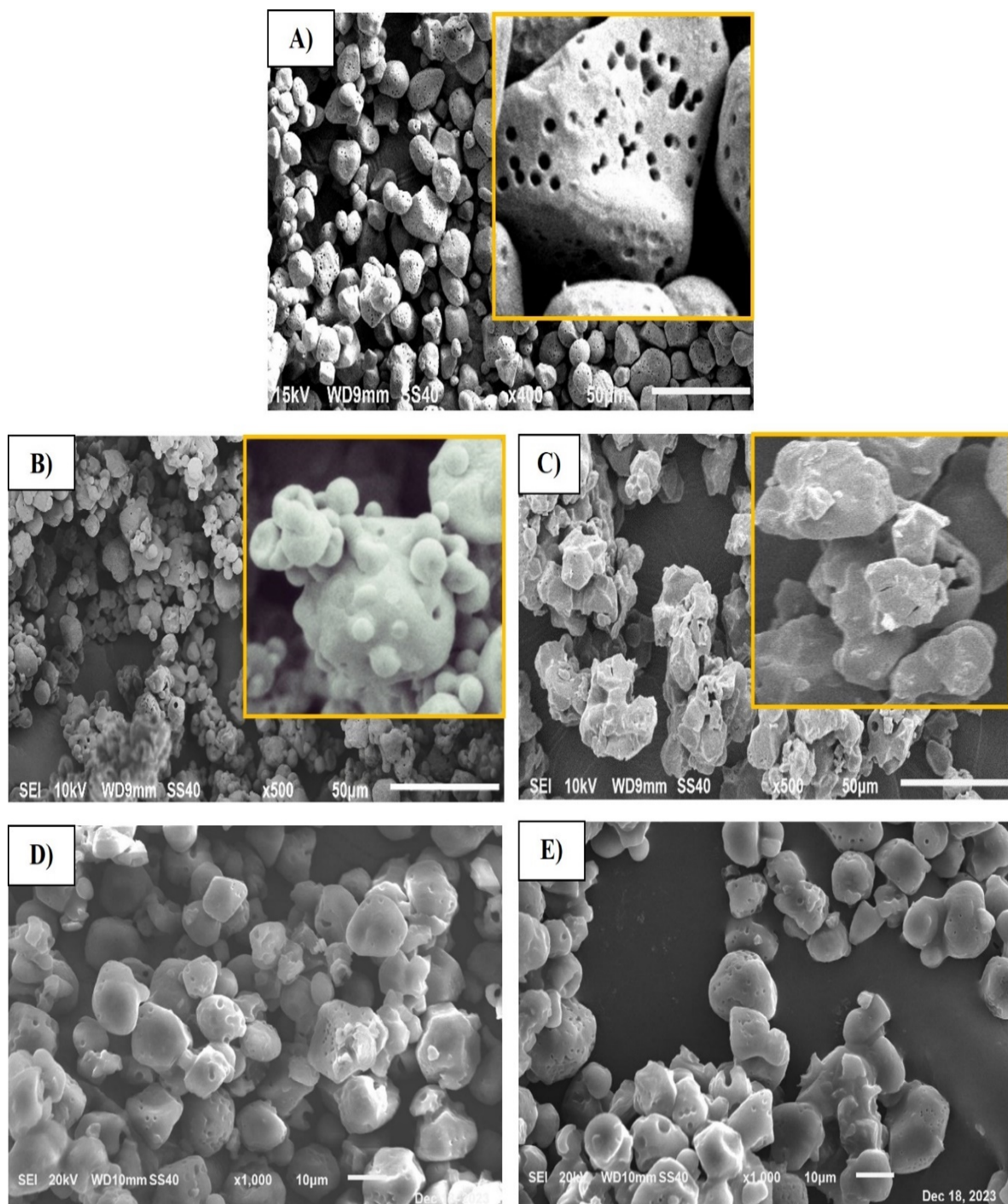
1038 **Tabla 13.** Caracterización física y química de microcápsulas obtenidas bajo condiciones óptimas

Parámetro	Predicción	Resultado basal ^o	Asertividad (%)
aw	0.186	0.204 ± 0.003	91.2
Compuestos fenólicos totales (mg EAG/ 100g)	2602.8	2368.0 ± 45	90.9
Flavonoids totales (mg EQ/ 100g)	770.0	694.0 ± 15.1	90.1
Antocianinas monoméricas totales (mg EC3G/ 100g)	985.8	930.0 ± 25	94.3
Actividad antirradical DPPH (mmol ET/ g)	455.3	423.0 ± 12.5	92.9
Eficiencia de encapsulación (%)	80.2	76.1 ± 3.5	94.8
Retención de antocianinas (Estabilidad) ^a (mg EC3G/ 100g)	38.7	35.6 ± 1.9	91.9

1039 ^a Estabilidad fue determinada como retención de antocianinas.

1040 ^o: Promedio de tres repeticiones ± error estándar.

1041 EAG: Equivalentes de Ácido Gálico, EQ: Equivalentes de Quercetina, EC3G: Equivalentes de Cyanidin-3-glucósido.



1043 **Figura 20.** Micrografía SEM de gránulos de almidón de maíz tratados con enzimas a 400x
 1044 (A); microcápsulas optimizadas en la semana cero a 500x (B); microcápsulas optimizadas a
 1045 las seis semanas en condiciones de envejecimiento acelerado a 500x (C); microcápsulas en la
 1046 semana cero, 25% TSC, APM:GA 94:6, a 1000x (D) y microcápsulas en la semana cero, 16%
 1047 TSC, APM:GA 94:6, a 1000x (E).

1048 **6.3.8. Análisis cinético de la degradación de ME**

1049 La Figura 21 muestra el comportamiento de las condiciones óptimas del ME vs el tiempo de
1050 almacenamiento por 8 semanas en condiciones de envejecimiento acelerado (55 °C y 52.86%
1051 HR). En general, se observa una reducción de los compuestos bioactivos con el incremento del
1052 tiempo de almacenamiento. Los valores más bajos cuantificados fueron para los flavonoides y
1053 los mayores para DPPH, a las 8 semanas de almacenamiento. La rápida reducción en las primeras
1054 semanas puede ser debido a la pérdida superficial de los compuestos bioactivos (Leyva-López et
1055 al., 2019). Sin embargo, se observa que a las 8 semanas de almacenamiento (40 días), bajo
1056 condiciones de envejecimiento acelerado las microcápsulas mantuvieron entre un ~30% al ~40%
1057 de compuestos bioactivos. Este comportamiento de retención podría ser explicado por lo ya
1058 discutido en secciones anteriores, a los poros realizados al almidón, que pudieran estar
1059 incrementado las interacciones químicas por el incremento del área de contacto, al recubrimiento
1060 de la GA, que podría estar atrapando física y/o químicamente los compuestos, mejorando la
1061 retención en APM (Ver Figura 20A, B). Que un compuesto bioactivo sea cuantificado en mayor
1062 cantidad que otro, bajo diferentes condiciones y tiempo de almacenamiento depende más de las
1063 características estructurales de los compuestos bioactivos (Khazaei et al., 2016; Mehran et al.,
1064 2020), que del material pared.

1065 El comportamiento de disminución de los compuestos bioactivos microencapsulados respecto al
1066 tiempo, obedece a una cinética de orden uno, y los resultados mostraron altos valores en los
1067 coeficientes de correlación de $\sim R^2 > 0.99$, (Ver figura 21). El comportamiento de una cinética de
1068 primer orden en este tipo de estudios está relacionado con la constante de degradación (k) de los
1069 compuestos antioxidantes presentes en un extracto, ya que la degradación de estos es provocada
1070 principalmente por reacciones de oxidación provocadas por el calentamiento (Idham et al., 2012),
1071 en las condiciones de obtención o almacenamiento.

1072

1073
1074
1075
1076
1077
1078
1079
1080
1081
1082
1083
1084
1085
1086
1087
1088
1089
1090
1091
1092
1093
1094
1095
1096
1097
1098
1099
1100
1101
1102
1103
1104

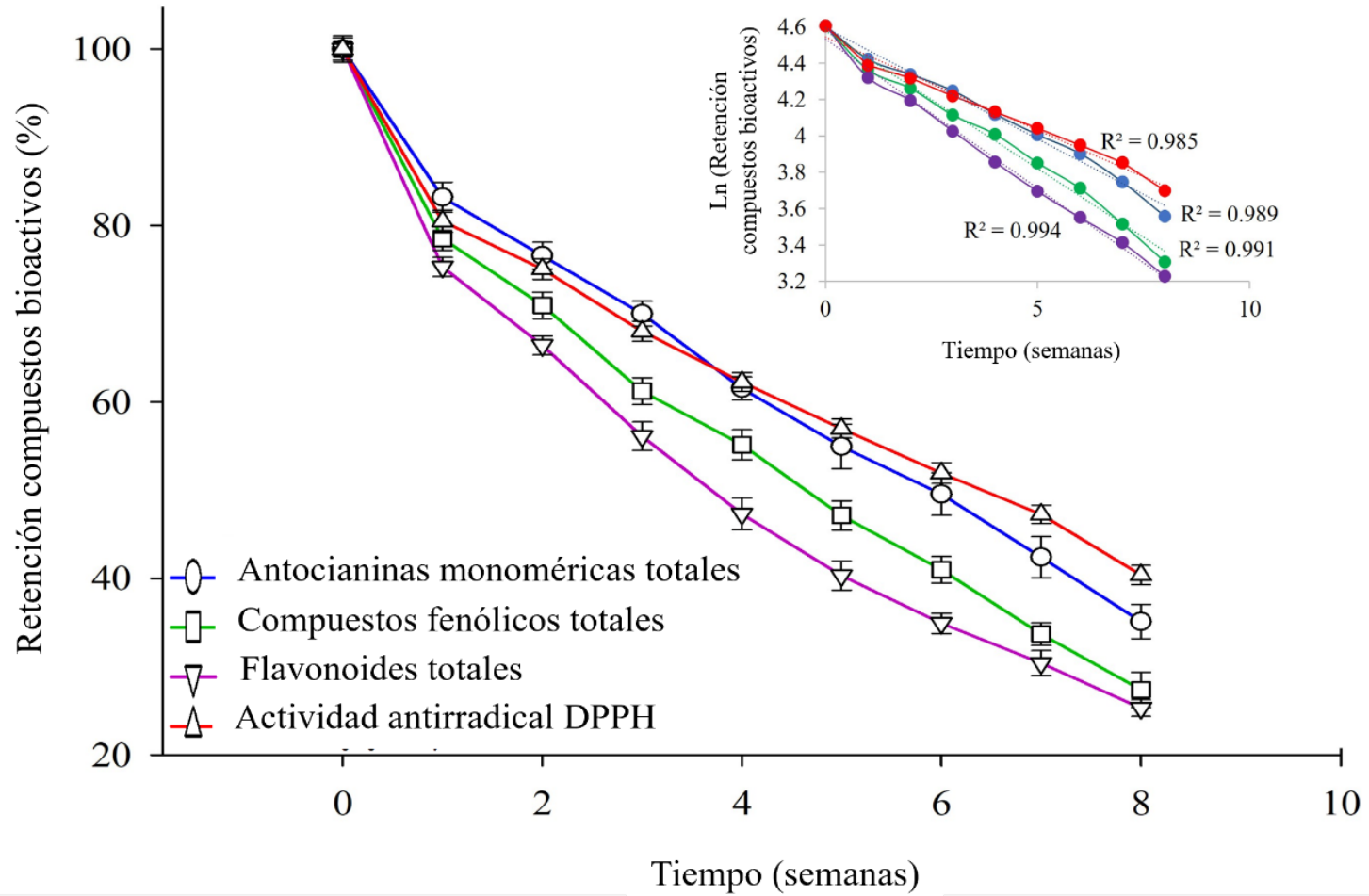


Figura 21. Estabilidad de almacenamiento de ME obtenida en condiciones óptimas a 55 °C, 52.86% HR.

1105 **6.3.9. Digestión *in vitro***

1106 La Figura 22 muestra el perfil de liberación de antocianinas microencapsuladas bajo las
1107 condiciones óptimas (ME) y el comportamiento del extracto sin encapsular (HSE) bajo
1108 condiciones gastrointestinales simuladas. En la fase gástrica (pH 3.0, tiempo 60 min) se puede
1109 observar el efecto protector del material pared APM-GA, ya que el porcentaje determinado de
1110 antocianinas es menor. Esto es un indicativo de que en la encapsulación de compuestos bioactivos
1111 estos podrían ser liberados de manera controlada y continua, favoreciendo la estabilidad y una
1112 mayor bioaccesibilidad (Mehran et al., 2020). Esta reducción de la actividad de las antocianinas
1113 durante la digestión es debido a que estas sufren cambios en su estructura química causada por
1114 el entorno fisiológico, como el pH y la temperatura (Paramera et al., 2011). En la última fase de
1115 la digestión (intestinal) a pH 8.0 (240 min), se puede observar una drástica reducción en el
1116 porcentaje de la antocianina no encapsulada de ~90%, en comparación con el ME con una pérdida
1117 de ~60%, estos resultados podrían concluir que las condiciones óptimas de las concentraciones
1118 usadas en el material pared (APM-GA) de este estudio proporcionan una efectiva protección y
1119 un buen control en la liberación controlada en condiciones gastrointestinal del extracto de
1120 Jamiaca. La mezcla de diferentes materiales pared puede ralentizar efectivamente la hidrólisis de
1121 los componentes bioactivos (Zhang et al., 2020).

1122 Por otro lado, se ha reportado que varios factores pueden afectar la liberación de los compuestos
1123 bioactivos, como cambios de temperatura, pH, disolución del material pared, difusión, ruptura
1124 mecánica y permeabilidad selectiva (Shahidi et al., 1993). Otro estudio reporta que la velocidad
1125 de liberación es directamente proporcional al peso molecular del polímero usado como material
1126 pared, a mayor peso molecular, menor y más lenta es la liberación de los compuestos del núcleo
1127 al exterior (da Cruz Rodrigues et al., 2019).

1128

1129

1130

1131
1132
1133
1134
1135
1136
1137
1138
1139
1140
1141
1142
1143
1144
1145
1146
1147
1148
1149

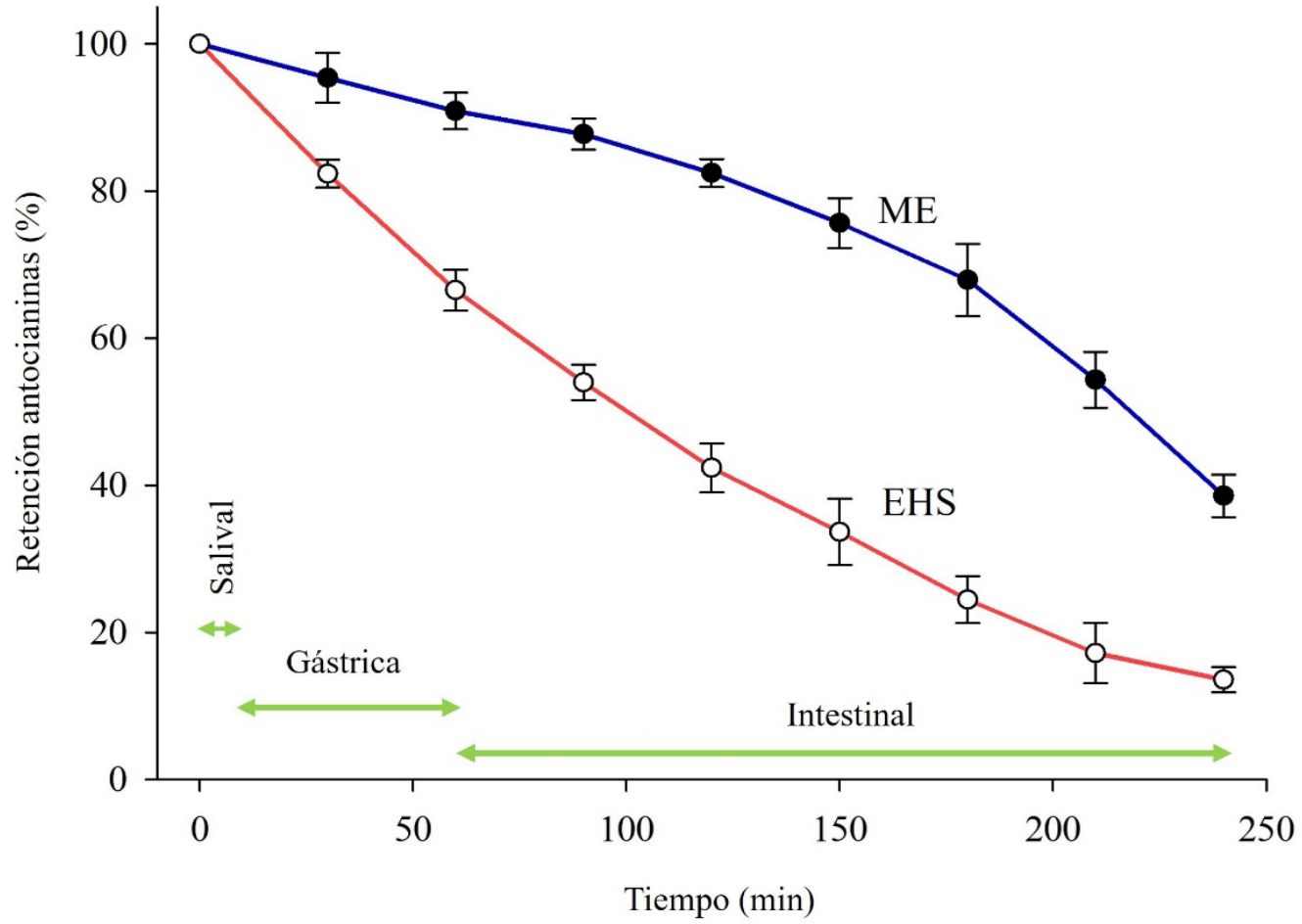


Figura 22. Perfil de retención gastrointestinal in vitro de antocianinas en saliva (pH 6.8, 5 min), estómago (pH 3, 60 min) y condiciones intestinales (pH 8, 240 min) (B). ME: Microcápsula. EHS: Extracto de *Hibiscus sabdariffa* L.

1150 **6.3.10. Actividad inhibitoria de ECA en microencapsulados**

1151 Por otro lado, se investigó la actividad inhibidora de la ECA en el extracto HS y en las
1152 microcápsulas optimizadas bajo condiciones gastrointestinales simuladas durante 4 semanas en
1153 condiciones de envejecimiento acelerado (55°C y 52.86% HR). Como se muestra en la Figura
1154 23, los microencapsulados optimizados (MO) mostraron una mayor actividad inhibidora de la
1155 ECA en comparación con el EHS libre, pero aún menor que la del captopril ($p < 0.05$). La
1156 actividad inhibidora de la ECA disminuyó significativamente en el extracto HS digerido en
1157 comparación con el extracto HS sin digestión, mientras que la de los microencapsulados fue más
1158 alta ($p < 0.05$). Después de 4 semanas de almacenamiento en condiciones de envejecimiento
1159 acelerado aproximadamente se presentó un $28.6 \pm 2.1\%$ de inhibición de ECA en MO digeridos
1160 en comparación con el EHS libre ($6.7 \pm 0.54\%$). Deng et al. (2024) sugirieron que la
1161 microencapsulación puede no sólo proteger los compuestos bioactivos (flavonoides, fenoles
1162 totales y terpenoides) sino también facilitan la liberación efectiva y minimiza la degradación en
1163 condiciones gastrointestinales simuladas. Las microcápsulas optimizadas con APM-GA ayudaron
1164 a conservar la actividad inhibidora de la ECA. Este comportamiento puede atribuirse debido a la
1165 composición y estructura del material pared, donde se presenta una mayor retención de
1166 compuestos bioactivos (Deng et al., 2024). Estudios anteriores han demostrado efectos sobre la
1167 inhibición de la ECA de flavonoides y fenoles (Chen et al., 2023) y se destacó el impacto de la
1168 estructura del material pared en la liberación de los compuestos bioactivos (da Cruz Rodrigues
1169 et al., 2019).

1170

1171

1172

1173

1174

1175

1176

1177

1178

1179

1180

1181

1182

1183

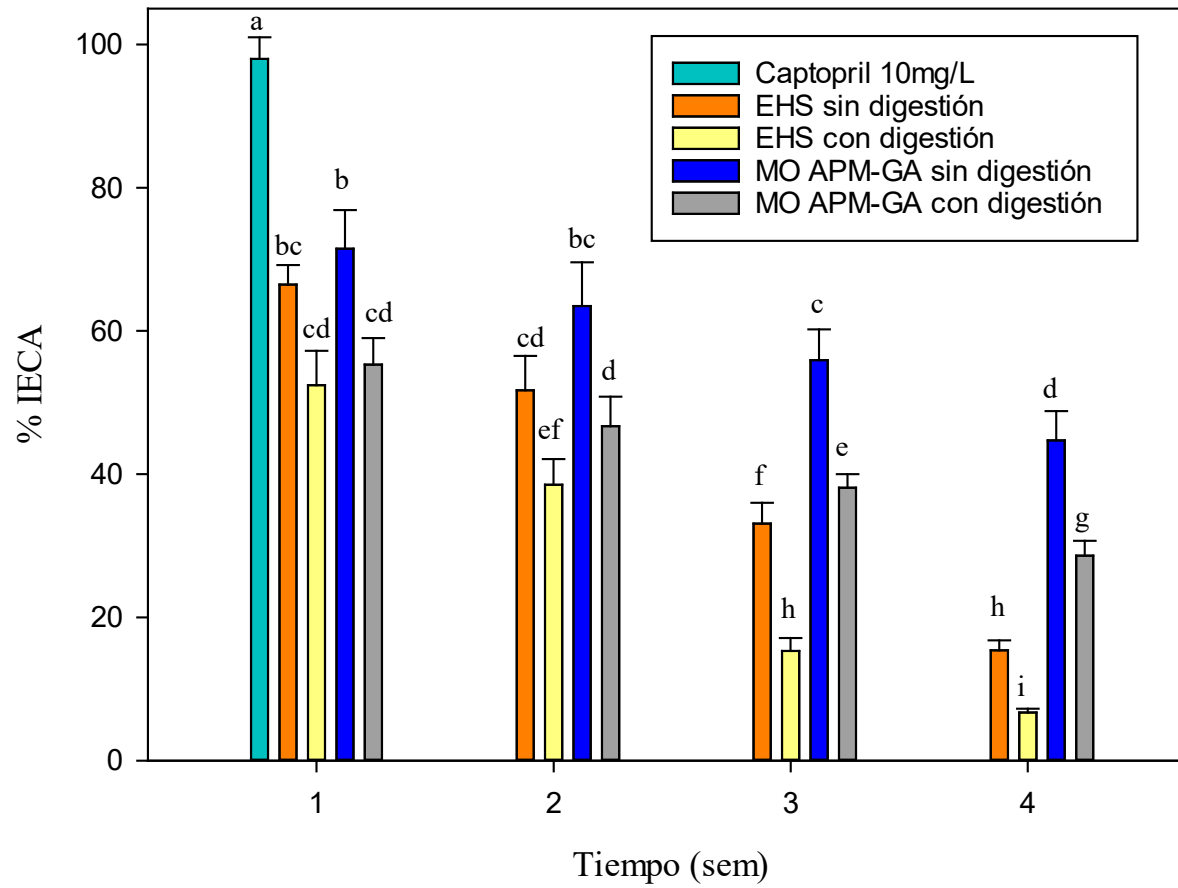


Figura 23. Actividad de la ECA en el EHS y en las microcápsulas optimizadas (MO) con y sin digestión *in vitro*.

1184 7. CONCLUSIONES

1185 1. El tiempo de modificación enzimática y las enzimas utilizadas juega un papel importante
1186 en el porcentaje de hidrólisis del almidón, ya que está relacionado con la erosión, volumen y
1187 número de poros.

1188 2. El diseño de Box-Behnken con MSR permitió establecer las condiciones de extracción
1189 óptimas integrando tres variables independientes: temperatura, relación soluto-disolvente y
1190 tiempo de extracción. Por tanto, los datos experimentales obtenidos son interesantes para los
1191 diferentes factores de respuesta.

1192 3. El uso de diferentes materiales pared en la preparación de microcápsulas mediante el
1193 método de secado por aspersion tiene efectos significativos sobre el contenido de humedad,
1194 tamaño de partícula, actividad de agua, morfología, eficiencia y retención de los compuestos
1195 químicos de las microcápsulas obtenidas.

1196 4. La liberación *in vitro* de antocianinas de las microcápsulas fue evidentemente más
1197 controlada en comparación con el extracto no encapsulado. La mayor liberación de compuestos
1198 bioactivos fue en el intestino delgado, resistiendo la hidrólisis en el estómago por el material
1199 pared.

1200 5. Las variables tomadas para aplicar la ecuación de predicción (deseabilidad), vs lo
1201 obtenido en el laboratorio, muestran una predicción de más del 90%, lo que concluye que las
1202 condiciones para la encapsulación del extracto de *Hibiscus sabdariffa*, obtenidas por MSR, son
1203 asertivas.

1204 6. Por lo que los resultados obtenidos en este estudio podrían contribuir a la protección de
1205 compuestos bioactivos usando APM-GA, con un potencial uso en la industria alimentaria y
1206 farmacéutica.

1207

8. REFERENCIAS

- Abbafati, C., Abbas, K. M., Abbasi-Kangevari, M., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., Abdollahi, M. et al. (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 396(10258), 1223-1249.
- Abou-Arab, A. A., Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. A. J. J. o. A. s. (2011). Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*). 7(7), 445-456.
- Acharya, K. R., Sturrock, E. D., Riordan, J. F., & Ehlers, M. R. J. N. R. D. D. (2003). Ace revisited: a new target for structure-based drug design. 2(11), 891-902.
- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., Keen, C. L., & Fraga, C. G. J. F. I. (2003). Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. 555(3), 597-600.
- Aggarwal, P., & Dollimore, D. J. T. a. (2000). Degradation of starchy food material by thermal analysis. 357, 57-63.
- Aghbashlo, M., Mobli, H., Madadlou, A., Rafiee, S. J. F., & Technology, B. (2013). Influence of wall material and inlet drying air temperature on the microencapsulation of fish oil by spray drying. 6, 1561-1569.
- Ahad, A., Raish, M., Bin Jordan, Y. A., Alam, M. A., Al-Mohizea, A. M., & Al-Jenoobi, F. I. J. X. (2020). Effect of *Hibiscus sabdariffa* and *Zingiber officinale* on the antihypertensive activity and pharmacokinetic of losartan in hypertensive rats. 50(7), 847-857.
- Ahad, T., Masoodi, F. A., Gull, A., Wani, S. M., Shafi, M. N. J. J. o. f. p., & preservation. (2021). Optimization of process parameters for spray drying of ginger oleoresin powder using response surface methodology. 45(4), e15190.
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. J. I. j. o. b. m. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using β glucan and β cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. 109, 435-442.
- Ahmad, M., Mudgil, P., Gani, A., Hamed, F., Masoodi, F. A., & Maqsood, S. J. F. c. (2019). Nano-encapsulation of catechin in starch nanoparticles: Characterization, release behavior and bioactivity retention during simulated in-vitro digestion. 270, 95-104.
- Ahmed, T., Rana, M. R., Hossain, M. A., Ullah, S., Suzauddula, M. J. B. C., & Biorefinery. (2023). Optimization of ultrasound-assisted extraction using response surface methodology for total anthocyanin content, total phenolic content, and antioxidant activities of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces and comparison with conventional Soxhlet extraction. 1-15.
- Ajay, M., Chai, H., Mustafa, A., Gilani, A. H., & Mustafa, M. R. J. J. o. e. (2007). Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. 109(3), 388-393.
- Akindahunsi, A., & Olaleye, M. J. J. o. e. (2003). Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. 89(1), 161-164.
- Al Shukor, N., Van Camp, J., Gonzales, G. B., Staljanssens, D., Struijs, K., Zotti, M. J. et al. (2013). Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: A study of structure activity relationships. 61(48), 11832-11839.
- Alfaro-Galarza, O., López-Villegas, E., Rivero-Perez, N., Tapia-Maruri, D., Jiménez-Aparicio, A., Palma-Rodríguez, H. et al. (2020). Protective effects of the use of taro and rice starch as wall material on the viability of encapsulated *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*. 117, 108686.

- Ali, B. H., Cahliková, L., Opletal, L., Karaca, T., Manoj, P., Ramkumar, A. et al. (2017). Effect of aqueous extract and anthocyanins of calyces of *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) in rats with adenine-induced chronic kidney disease. *69*(9), 1219-1229.
- Altin, G., Gültekin-Özgüven, M., & Ozcelik, B. J. J. o. F. E. (2018). Chitosan coated liposome dispersions loaded with cacao hull waste extract: Effect of spray drying on physico-chemical stability and in vitro bioaccessibility. *223*, 91-98.
- Alvarez Gaona, I. J., Rocha Parra, D. F., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2017). Drying/encapsulation of red wine to produce ingredients for healthy foods.
- Anaya-Esparza, L. M., Aurora-Vigo, E. F., Villagrán, Z., Rodríguez-Lafitte, E., Ruvalcaba-Gómez, J. M., Solano-Cornejo, M. Á. et al. (2023). Design of Experiments for Optimizing Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Plant-Based Sources. *28*(23), 7752.
- Aneke, N. N., Okonkwo, W. I., Ezeoha, S. L., Okafor, G. I., Anyanwu, C. N. J. J. o. R., Science, I. i. F. et al. (2023). Optimization of Anthocyanin Extraction from Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Calyces: RSM, Kinetic Modelling, Mass Transfer and Thermodynamic Studies. *11*(4).
- Antony, A., & Farid, M. J. A. S. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *12*(4), 2107.
- Arepally, D., & Goswami, T. K. J. L. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *99*, 583-593.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A. et al. (2014). Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma Blanca' y 'Rosalíz' de color claro, y 'Cotzaltzin' y 'Tecoanapa' de color rojo. *37*(2), 181-185.
- Asrafi, R., Kumar, Y., Bist, Y., Saxena, D. C., & Sharanagat, V. S. (2024). Esterified porous starch from guinea grass seed for enhanced facile microencapsulation of bioactive materials. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *7*, 100490.
- Augustin, M., & Sanguansri, L. (2008). Encapsulation of bioactives. In *Food materials science: principles and practice*, (pp. 577-601): Springer.
- Aurelio, D. L., Edgardo, R. G., Navarro-Galindo, S. J. I. j. o. f. s., & technology. (2008). Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion. *43*(2), 322-325.
- Bai, L., Xu, D., Zhou, Y.-M., Zhang, Y.-B., Zhang, H., Chen, Y.-B. et al. (2022). Antioxidant activities of natural polysaccharides and their derivatives for biomedical and medicinal applications. *11*(12), 2491.
- Bakowska-Barczak, A. M., Kolodziejczyk, P. P. J. I. c., & products. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *34*(2), 1301-1309.
- Balasubramani, P., Viswanathan, R., & Vairamani, M. J. B. E. (2013). Response surface optimisation of process variables for microencapsulation of garlic (*Allium sativum* L.) oleoresin by spray drying. *114*(3), 205-213.
- Barba, F. J., Grimi, N., & Vorobiev, E. J. J. o. F. E. (2015). Evaluating the potential of cell disruption technologies for green selective extraction of antioxidant compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *149*, 222-228.
- Başığit, B., Sağlam, H., Kandemir, Ş., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. J. P. T. (2020). Microencapsulation of sour cherry oil by spray drying: Evaluation of physical morphology, thermal properties, storage stability, and antimicrobial activity. *364*, 654-663.
- Baysan, U., Elmas, F., & Koç, M. J. J. o. F. P. E. (2019). The effect of spray drying conditions

- on physicochemical properties of encapsulated propolis powder. *42*(4), e13024.
- Belingeri, C., Giussani, B., Rodriguez-Estrada, M. T., Ferrillo, A., & Vittadini, E. J. F. C. (2015). Oxidative stability of high-oleic sunflower oil in a porous starch carrier. *166*, 346-351.
- Bello-Perez, L. A., Paredes-Lopez, O., Roger, P., & Colonna, P. J. F. C. (1996). Amylopectin—properties and fine structure. *56*(2), 171-176.
- Benavent-Gil, Y., Rodrigo, D., & Rosell, C. M. J. C. p. (2018). Thermal stabilization of probiotics by adsorption onto porous starches. *197*, 558-564.
- Benavent-Gil, Y., & Rosell, C. M. J. C. p. (2017). Comparison of porous starches obtained from different enzyme types and levels. *157*, 533-540.
- Benchikh, Y., & Louailèche, H. J. A. B. G. (2014). Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp. *161*(2), 175-181.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. J. T. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *76*(5), 965-977.
- Bicudo, M. O. P., J6, J., Oliveira, G. A., Chaimsohn, F. P., Sierakowski, M. R., Freitas, R. A. et al. (2015). Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) Pulp by Spray Drying Using Different Carriers and Drying Temperatures. *Drying Technology*, *33*(2), 153-161.
- Bouchet-Spinelli, A., Coche-Guérente, L., Armand, S., Lenouvel, F., Labbé, P., Fort, S. J. S. et al. (2013). Functional characterization of starch-degrading enzymes using quartz crystal microbalance with dissipation monitoring (QCM-D). *176*, 1038-1043.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C. J. L.-F. s., & Technology. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *28*(1), 25-30.
- Bruschi, M. L. (2015). *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*: Woodhead Publishing.
- Cacace, J., & Mazza, G. J. J. o. F. E. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *59*(4), 379-389.
- Cacace, J., & Mazza, G. J. J. o. f. s. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *68*(1), 240-248.
- Calvo, M. M., Martín-diana, A. B., Rico, D., López-caballero, M. E., & Martínez-álvarez, O. (2022). Antioxidant, Antihypertensive, Hypoglycaemic and Nootropic Activity of a Polyphenolic Extract from the Halophyte Ice Plant (*Mesembryanthemum crystallinum*). *Foods*, *11*(11).
- Campo-Fernández, M., Granja-Rizzo, D. F., Matute-Castro, N. L., Cuesta-Rubio, O., & Márquez-Hernández, I. J. R. C. d. Q. (2021). Microencapsulación mediante secado por atomización a partir de un extracto de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. *50*(1), 40-50.
- Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R., & Hubinger, M. D. J. J. o. f. e. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *115*(4), 443-451.
- Carrillo-Navas, H., González-Rodea, D., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J. F., Román-Guerrero, A., & Pérez-Alonso, C. J. R. m. d. i. q. (2011). Storage stability and physicochemical properties of passion fruit juice microcapsules by spray-drying. *10*(3), 421-430.
- Cassol, L., Noreña, C. P. Z. J. J. o. F. M., & Characterization. (2021). Microencapsulation and accelerated stability testing of bioactive compounds of *Hibiscus sabdariffa*. *15*, 1599-1610.
- Chakraborty, R., & Roy, S. (2021). Angiotensin-converting enzyme inhibitors from plants: A

- review of their diversity, modes of action, prospects, and concerns in the management of diabetes-centric complications. *Journal of Integrative Medicine*, 19(6), 478-492.
- Chan, S., Lee, C., Yap, C., Wan Aida, W., & Ho, C. J. I. F. R. J. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. 16(2).
- Chang, P. R., Yu, J., & Ma, X. J. C. P. (2011). Preparation of porous starch and its use as a structure-directing agent for production of porous zinc oxide. 83(2), 1016-1019.
- Chaudhary, N., Sabikhi, L., Hussain, S. A., & Kumar M H, S. (2020). A comparative study of the antioxidant and ACE inhibitory activities of selected herbal extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 22.
- Chen, J., Wang, Y., Liu, J., & Xu, X. J. I. J. o. B. M. (2020). Preparation, characterization, physicochemical property and potential application of porous starch: A review. 148, 1169-1181.
- Chen, L., Wang, L., Cai, J., Yang, T., Li, J., & Shu, G. (2024). Characterization of fermented pomegranate juice: ACE inhibitory activity under in vitro digestion, antioxidant capacity, phenolics composition, chemical properties and sensory evaluation. *Food Science and Biotechnology*, 33(4), 981-990.
- Chen, L., Wang, L., Shu, G., Yuan, J., Zhang, J., Qin, S. et al. (2023). Enhanced antihypertensive potential of fermented pomegranate juice: The contribution of phenolic compounds biotransformation and the resultant angiotensin-I-converting enzyme inhibition mechanism. *Food Chemistry*, 404.
- Chen, L., Wang, L., Shu, G., Yuan, J., Zhang, J., Qin, S. et al. (2023). Enhanced antihypertensive potential of fermented pomegranate juice: The contribution of phenolic compounds biotransformation and the resultant angiotensin-I-converting enzyme inhibition mechanism. *Food Chemistry*, 404, 134745.
- Chen, M. M., Zhang, X., Liu, Y. M., Chen, Z., Li, H., Lei, F. et al. (2021). Heavy Disease Burden of High Systolic Blood Pressure During 1990-2019: Highlighting Regional, Sex, and Age Specific Strategies in Blood Pressure Control. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8.
- Chen, S., Chu, C., Jiang, C., & Duh, P. J. J. F. N. R. (2019). The vasodilating effect and angiotensin converting enzyme inhibition activity of three dietary flavonols: Comparison between myricetin, quercetin and morin, in vitro. 7, 347-354.
- Chrysant, S. G., & Chrysant, G. S. (2017). Herbs Used for the Treatment of Hypertension and their Mechanism of Action. *Current Hypertension Reports*, 19(9).
- Cooke, D., & Gidley, M. J. J. C. r. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. 227, 103-112.
- Corrêa-Filho, L. C., Lourenço, M. M., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. J. I. j. o. f. s. (2019). Microencapsulation of β -carotene by spray drying: effect of wall material concentration and drying inlet temperature. 2019.
- Crittenden, R., Morris, L., Harvey, M., Tran, L., Mitchell, H., & Playne, M. J. J. o. A. M. (2001). Selection of a Bifidobacterium strain to complement resistant starch in a synbiotic yoghurt. 90(2), 268-278.
- Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20(7), 1637-1648.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424-

- 443.
- da Cruz Rodrigues, V. C., da Silva, L. G. S., Simabuco, F. M., Venema, K., & Antunes, A. E. C. J. J. o. F. F. (2019). Survival, metabolic status and cellular morphology of probiotics in dairy products and dietary supplement after simulated digestion. *55*, 126-134.
- da Silva, F. L., Escribano-Bailón, M. T., Alonso, J. J. P., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C. J. L.-F. S., & Technology. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *40*(2), 374-382.
- Das, A. B., Goud, V. V., & 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.
- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I., Marín-Arroyo, M. R. J. F., & Technology, B. (2013). Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. *6*, 941-951.
- Daza, L. D., Fujita, A., Granato, D., Fávoro-Trindade, C. S., & Genovese, M. I. J. F. b. (2017). Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extract. *18*, 15-21.
- de Araújo, J. S. F., de Souza, E. L., Oliveira, J. R., Gomes, A. C. A., Kotzebue, L. R. V., da Silva Agostini, D. L. et al. (2020). Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *143*, 991-999.
- de Moura, S. C., Berling, C. L., Garcia, A. O., Queiroz, M. B., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. J. F. R. I. (2019). Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. *121*, 542-552.
- Deng, Q., Han, L., Tang, C., Ma, Y., Lao, S., Min, D. et al. (2024). Sweet tea extract encapsulated by different wall material combinations with improved physicochemical properties and bioactivity stability. *Journal of Microencapsulation*.
- Do, D. T., Singh, J., Oey, I., & Singh, H. J. F. H. (2019). Modulating effect of cotyledon cell microstructure on in vitro digestion of starch in legumes. *96*, 112-122.
- dos Santos Alves, M. J., de Sousa, M. H. O., de Moura, N. F., Cesca, K., Verruck, S., Monteiro, A. R. et al. (2024). Starch nanoparticles containing phenolic compounds from green propolis: Characterization and evaluation of antioxidant, antimicrobial and digestibility properties. *255*, 128079.
- Drosou, C. G., Krokida, M. K., & Biliaderis, C. G. J. D. t. (2017). Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications. *35*(2), 139-162.
- El Naim, A. M., Ahmed, S. E. J. A. J. o. B., & Sciences, A. (2010). Effect of weeding frequencies on growth and yield of two roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) varieties under rain fed. *4*(9), 4250-4255.
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. J. A. (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *10*(12), 1967.
- Encina, C., Vergara, C., Giménez, B., Oyarzún-Ampuero, F., Robert, P. J. T. i. f. s., & technology. (2016). Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. *56*, 46-60.
- Esfanjani, A. F., Jafari, S. M. J. C., & Bionterfaces, S. B. (2016). Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *146*, 532-543.
- Espinosa-Solis, V., Zamudio-Flores, P. B., Espino-Díaz, M., Vela-Gutiérrez, G., Rendón-Villalobos, J. R., Hernández-González, M. et al. (2021). Physicochemical characterization

- of resistant starch type-III (RS3) obtained by autoclaving malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) flour and corn starch. *26*(13), 4006.
- Etzbach, L., Meinert, M., Faber, T., Klein, C., Schieber, A., & Weber, F. J. C. R. i. F. S. (2020). Effects of carrier agents on powder properties, stability of carotenoids, and encapsulation efficiency of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) powder produced by co-current spray drying. *3*, 73-81.
- Fakeye, T. O., Adisa, R., Musa, I. E. J. B. C., & medicine, a. (2009). Attitude and use of herbal medicines among pregnant women in Nigeria. *9*, 1-7.
- Falade, O., Otemuyiwa, I., Oladipo, A., Oyedapo, O., Akinpelu, B., & Adewusi, S. J. J. o. E. (2005). The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. *102*(1), 15-22.
- Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., Vissotto, F. Z., de Aguirre, J. M. J. I. J. o. F. S., & Technology. (2012). Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *47*(6), 1237-1245.
- Ferreira, S., Torres-Palazzolo, C., Bottini, R., Camargo, A., & Fontana, A. J. F. C. (2021). Assessment of in-vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds extracts recovered from grapevine bunch stem and cane by-products. *348*, 129063.
- Ferrini, L. M., Rocha, T. S., Demiate, I. M., & Franco, C. M. J. S. S. (2008). Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. *60*(8), 417-425.
- Finotelli, P. V., & Rocha-Leão, M. H. (2005). Microencapsulation of ascorbic acid in maltodextrin and capsul using spray-drying. In *Anais do 4º Mercosur Congress on Process Systems Engineering*.
- Flores, F. P., Kong, F. J. A. R. o. F. S., & Technology. (2017). In vitro release kinetics of microencapsulated materials and the effect of the food matrix. *8*, 237-259.
- Formagio, A., Ramos, D., Vieira, M., Ramalho, S., Silva, M., Zárata, N. et al. (2015). Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *75*, 69-76.
- Forouzanfar, M. H., Afshin, A., Alexander, L. T., Biryukov, S., Brauer, M., Cercy, K. et al. (2016). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, *388*(10053), 1659-1724.
- Frascareli, E., Silva, V., Tonon, R., Hubinger, M. J. F., & processing, b. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *90*(3), 413-424.
- French, D. J. J. o. t. J. S. o. s. S. (1972). Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *19*(1), 8-25.
- Gani, A., Shah, A., Ahmad, M., Ashwar, B. A., & Masoodi, F. J. I. j. o. b. m. (2018). β -d-glucan as an enteric delivery vehicle for probiotics. *106*, 864-869.
- Gavory, C., Abderrahmen, R., Valour, J.-P., Chaussy, D., Belgacem, M. N., Fessi, H. et al. (2012). Encapsulation of a pressure-sensitive adhesive by spray-drying: microparticles preparation and evaluation of their crushing strength. *29*(2), 185-193.
- Geranpour, M., Emam-Djomeh, Z., Asadi, G. J. J. o. f. p., & preservation. (2019). Investigating the effects of spray drying conditions on the microencapsulation efficiency of pumpkin seed oil. *43*(7), e13947.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. J. F. r. i. (2007).

- Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *40*(9), 1107-1121.
- Golshan Tafti, A., Peighambaroust, S. H., Behnam, F., Bahrami, A., Aghagholizadeh, R., Ghamari, M. et al. (2013). Effects of spray-dried sourdough on flour characteristics and rheological properties of dough. *Czech Journal of Food Sciences*, *31*(4), 361-367.
- González-Aguilar, G. A., Blancas-Benítez, F. J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. J. C. O. i. F. S. (2017). Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: Molecular interactions and bioaccessibility. *13*, 84-88.
- Guan, J., & Hanna, M. A. J. B. (2004). Extruding foams from corn starch acetate and native corn starch. *5*(6), 2329-2339.
- Gui, Y., Zou, F., Li, J., Zhu, Y., Guo, L., & Cui, B. J. F. H. (2021). The structural and functional properties of corn starch treated with endogenous malt amylases. *117*, 106722.
- Gül, O., Dervişoğlu, M. J. E. F. S., & Engineering. (2020). Optimization of spray drying conditions for microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota using response surface methodology. *1*(1), 1-8.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. J. P. (2023). DPPH radical scavenging assay. *11*(8), 2248.
- Guo, L., Yuan, Y., Li, J., Tan, C., Janaswamy, S., Lu, L. et al. (2021). Comparison of functional properties of porous starches produced with different enzyme combinations. *174*, 110-119.
- Han, X., Ma, P., Shen, M., Wen, H., & Xie, J. (2023). Modified porous starches loading curcumin and improving the free radical scavenging ability and release properties of curcumin. *Food Research International*, *168*.
- Han, X., Wen, H., Luo, Y., Yang, J., Xiao, W., Ji, X. et al. (2021). Effects of α -amylase and glucoamylase on the characterization and function of maize porous starches. *116*, 106661.
- Han, Z., Li, Y., Luo, D.-H., Zhao, Q., Cheng, J.-H., & Wang, J.-H. J. F. c. (2021). Structural variations of rice starch affected by constant power microwave treatment. *359*, 129887.
- He, J., Giusti, M. M. J. A. r. o. f. s., & technology. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *1*, 163-187.
- Hernández-Ledesma, B., Martín-Álvarez, P. J., & Pueyo, E. (2003). Assessment of the Spectrophotometric Method for Determination of Angiotensin-Converting-Enzyme Activity: Influence of the Inhibition Type. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(15), 4175-4179.
- Hernandez-Uribe, J. P., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Bello-Pérez, L. A., & Vargas-Torres, A. J. S. S. (2011). Isolation and characterization of Mexican chayote tuber (*Sechium edule* Sw.) starch. *63*(1), 32-41.
- Herrera-Balandrano, D. D., Chai, Z., Beta, T., Feng, J., & Huang, W. (2021). Blueberry anthocyanins: An updated review on approaches to enhancing their bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, *118*, 808-821.
- Hj L. D. N., Samsudin, H., Utra, U., Alias, A. K. J. C. r. i. f. s., & nutrition. (2021). Modification methods toward the production of porous starch: A review. *61*(17), 2841-2862.
- Houkpè, L. H., Adovèlandé, J., Bossou, A. F., Konfo, C. T., Koudoro, Y. A., Bogninou, G. S. R. et al. (2019). Nutritional Valorization and Chemical Composition of Seeds of Hibiscus sabdariffa sabdariffa from Benin. *7*(5), 146-151.
- Hoyos-Leyva, J., Chavez-Salazar, A., Castellanos-Galeano, F., Bello-Perez, L., & Alvarez-Ramirez, J. J. F. H. (2018). Physical and chemical stability of L-ascorbic acid microencapsulated into taro starch spherical aggregates by spray drying. *83*, 143-152.
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Yee-Madeira, H., Rodriguez-Garcia, M. E., & Aguirre-Cruz, A. J. S. S. (2017). Characterization of the flour and starch of aroid cultivars grown

- in Mexico. *69*(9-10), 1600370.
- Hu, X., & Du, X. J. M. (2019). Adsorption of tea polyphenols using microporous starch: A study of kinetics, equilibrium and thermodynamics. *24*(8), 1449.
- Huber, K., & BeMiller, J. J. C. P. (2000). Channels of maize and sorghum starch granules. *41*(3), 269-276.
- Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. J. J. o. F. P. E. (2012). DEGRADATION KINETICS AND COLOR STABILITY OF SPRAY-DRIED ENCAPSULATED ANTHOCYANINS FROM HIBISCUS SABDARIFFA L. *35*(4), 522-542.
- Jabeur, I., Pereira, E., Barros, L., Calhelha, R. C., Soković, M., Oliveira, M. B. P. P. et al. (2017). Hibiscus sabdariffa L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Research International*, *100*, 717-723.
- Jain, S., Winuprasith, T., & Suphantharika, M. J. F. H. (2020). Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. *104*, 105730.
- Jakobek, L., Šeruga, M., Krivak, P. J. I. j. o. f. s., & nutrition. (2011). The influence of interactions among phenolic compounds on the antiradical activity of chokeberries (*Aronia melanocarpa*). *62*(4), 345-352.
- Janaswamy, S. J. C. p. (2014). Encapsulation altered starch digestion: Toward developing starch-based delivery systems. *101*, 600-605.
- Jane, J.-I. J. J. o. A. G. (2006). Current understanding on starch granule structures. *53*(3), 205-213.
- Jane, J. L., Kasemsuwan, T., Leas, S., Zobel, H., & Robyt, J. F. J. S. S. (1994). Anthology of starch granule morphology by scanning electron microscopy. *46*(4), 121-129.
- Ji, Y. (2021). Synthesis of porous starch microgels for the encapsulation, delivery and stabilization of anthocyanins. *Journal of Food Engineering*, *302*.
- Jo, Y.-J., Kim, J.-H. J. B., & Engineering, B. (2019). Effective diffusivity and mass transfer coefficient during the extraction of paclitaxel from *Taxus chinensis* using methanol. *24*, 818-823.
- Joven, J., March, I., Espinel, E., Fernández-Arroyo, S., Rodríguez-Gallego, E., Aragonès, G. et al. (2014). Hibiscus sabdariffa extract lowers blood pressure and improves endothelial function. *58*(6), 1374-1378.
- Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y. et al. (2019). Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *92*, 22-32.
- Jung, Y.-s., Lee, B.-H., & Yoo, S.-H. J. P. o. (2017). Physical structure and absorption properties of tailor-made porous starch granules produced by selected amyolytic enzymes. *12*(7), e0181372.
- Kandasamy, S., & Naveen, R. J. J. o. F. P. E. (2022). A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. *45*(8), e14059.
- Kaur, A., Singh, N., Ezekiel, R., & Sodhi, N. S. J. F. C. (2009). Properties of starches separated from potatoes stored under different conditions. *114*(4), 1396-1404.
- Keeratiburana, T., Hansen, A. R., Soontaranon, S., Blennow, A., & Tongta, S. J. C. p. (2020). Porous high amylose rice starch modified by amyloglucosidase and maltogenic α -amylase. *230*, 115611.
- Khazaei, K. M., Jafari, S., Ghorbani, M., Kakhki, A. H., & Sarfarazi, M. J. F. A. M. (2016). Optimization of anthocyanin extraction from saffron petals with response surface methodology. *9*, 1993-2001.
- Knutson, C., & Grove, M. J. C. C. (1994). Rapid method for estimation of amylose in maize

- starches. *71*(5), 469-471.
- Kuang, S. S., Oliveira, J. C., Crean, A. M. J. C. r. i. f. s., & nutrition. (2010). Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. *50*(10), 951-968.
- Lacerda, L. D., Leite, D. C., Soares, R. M., & da Silveira, N. P. J. S. S. (2018). Effects of α -Amylase, Amyloglucosidase, and Their Mixture on Hierarchical Porosity of Rice Starch. *70*(11-12), 1800008.
- Laureanti, E. J. G., Paiva, T. S., de Matos Jorge, L. M., & Jorge, R. M. M. J. I. J. o. B. M. (2023). Microencapsulation of bioactive compound extracts using maltodextrin and gum arabic by spray and freeze-drying techniques. *253*, 126969.
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., Kupina, C. E. T. G. M. H. J. H. H. K. S. K. D., & international, S. M. S. M. B. M. T. P. F. R. A. S. G. T. U. W. J. J. J. o. A. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *88*(5), 1269-1278.
- Lee, Y.-K., Ganesan, P., Baharin, B. S., & Kwak, H.-S. J. D. t. (2015). Characteristics, stability, and release of peanut sprout extracts in powdered microcapsules by spray drying. *33*(15-16), 1991-2001.
- Lei, M., Jiang, F.-C., Cai, J., Hu, S., Zhou, R., Liu, G. et al. (2018). Facile microencapsulation of olive oil in porous starch granules: Fabrication, characterization, and oxidative stability. *111*, 755-761.
- Leyva-López, R., Palma-Rodríguez, H. M., López-Torres, A., Capataz-Tafur, J., Bello-Pérez, L. A., & Vargas-Torres, A. (2019). Use of enzymatically modified starch in the microencapsulation of ascorbic acid: Microcapsule characterization, release behavior and in vitro digestion. *Food Hydrocolloids*, *96*, 259-266.
- Li, H., Turner, M. S., & Dhital, S. J. L. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *74*, 542-549.
- Li, Y., Zhao, X., Wang, L., Liu, Y., Wu, W., Zhong, C. et al. (2018). Preparation, characterization and in vitro evaluation of melatonin-loaded porous starch for enhanced bioavailability. *202*, 125-133.
- Lingua, M. S., Salomón, V., Baroni, M. V., Blajman, J. E., Maldonado, L. M., & Páez, R. (2020). Effect of spray drying on the microencapsulation of blueberry natural antioxidants. In *Proceedings*, vol. 70 (pp. 26): MDPI.
- Liu, H., Zhao, Z., Xu, W., Cheng, M., Chen, Y., Xun, M. et al. (2023). Preparation, characterization, release and antibacterial properties of cinnamon essential oil microcapsules. *13*(6), 973.
- Lu, W., Yang, X., Shen, J., Li, Z., Tan, S., Liu, W. et al. (2021). Choosing the appropriate wall materials for spray-drying microencapsulation of natural bioactive ingredients: Taking phenolic compounds as examples. *394*, 562-574.
- Luo, Z., Cheng, W., Chen, H., Fu, X., Peng, X., Luo, F. et al. (2013). Preparation and properties of enzyme-modified cassava starch-zinc complexes. *61*(19), 4631-4638.
- Luvonga, W., Njoroge, M., Makokha, A., & Ngunjiri, P. (2012). Chemical characterisation of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyces and evaluation of its functional potential in the food industry. In *Scientific Conference Proceedings*.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. J. I. j. o. f. s., & technology. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *41*(1), 1-21.
- Mahadevan, N., & Kamboj, P. (2009). *Hibiscus sabdariffa* linn.-An overview. *Natural Product Radiance*, *8*(1), 77-83.

- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Assadpoor, E. J. D. t. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: A review. *32*(5), 509-518.
- Mancia, G., Kreutz, R., Brunström, M., Burnier, M., Grassi, G., Januszewicz, A. et al. (2023). 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA). *Journal of Hypertension*, *41*(12), 1874-2071.
- Medina-Torres, L., García-Cruz, E., Calderas, F., Laredo, R. G., Sánchez-Olivares, G., Gallegos-Infante, J. et al. (2013). Microencapsulation by spray drying of gallic acid with nopal mucilage (*Opuntia ficus indica*). *50*(2), 642-650.
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, *148*, 768-776.
- Mendanha, D. V., Ortiz, S. E. M., Favaro-Trindade, C. S., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., & Thomazini, M. J. F. r. i. (2009). Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. *42*(8), 1099-1104.
- Méndez-Lagunas, L., Rodríguez-Ramírez, J., Cruz-Gracida, M., Sandoval-Torres, S., & Barriada-Bernal, G. J. F. c. (2017). Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *230*, 174-181.
- Miao, M., Li, R., Huang, C., Ye, F., Jiang, B., & Zhang, T. J. C. p. (2015). Structural modification and characterisation of a sugary maize soluble starch particle after double enzyme treatment. *122*, 101-107.
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. J. F. c. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *130*(4), 1036-1043.
- Moreno, T., Cocero, M., Rodríguez-Rojo, S. J. F., & Processing, B. (2018). Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. *112*, 96-107.
- Moyano, G., Sáyago-Ayerdi, S. G., Largo, C., Caz, V., Santamaria, M., & Tabernerero, M. J. J. o. F. F. (2016). Potential use of dietary fibre from *Hibiscus sabdariffa* and *Agave tequilana* in obesity management. *21*, 1-9.
- Mudalip, S. A., Khatiman, M., Hashim, N., Man, R. C., & Arshad, Z. J. M. T. P. (2021). A short review on encapsulation of bioactive compounds using different drying techniques. *42*, 288-296.
- Murador, D., Braga, A. R., Da Cunha, D., De Rosso, V. J. C. r. i. f. s., & nutrition. (2018). Alterations in phenolic compound levels and antioxidant activity in response to cooking technique effects: A meta-analytic investigation. *58*(2), 169-177.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., Kalia, P. J. F. S., & International, T. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *21*(8), 604-612.
- Nagar, E. E., Okun, Z., & Shpigelman, A. J. C. O. i. F. S. (2020). Digestive fate of polyphenols: Updated view of the influence of chemical structure and the presence of cell wall material. *31*, 38-46.
- Navarro-Flores, M. J., Ventura-Canseco, L. M. C., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. d. R., Abud-Archila, M. J. J. o. F. S., & Technology. (2020). Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *57*, 4111-4122.
- Navidad-Murrieta, M. S., Pérez-Larios, A., Sánchez-Burgos, J. A., Ragazzo-Sánchez, J. A.,

- Luna-Bárceñas, G., & Sáyago-Ayerdi, S. G. J. F. (2020). Use of a taguchi design in Hibiscus sabdariffa extracts encapsulated by spray-drying. *9*(2), 128.
- Nesterenko, A., Alric, I., Violleau, F., Silvestre, F., & Durrieu, V. J. F. H. (2014). The effect of vegetable protein modifications on the microencapsulation process. *41*, 95-102.
- Norkaew, O., Thitisut, P., Mahatheeranont, S., Pawin, B., Sookwong, P., Yodpitak, S. et al. (2019). Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. *294*, 493-502.
- Nwachukwu, D. C., Aneke, E. I., Obika, L. F., & Nwachukwu, N. Z. J. I. j. o. p. (2015). Effects of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa on the renin-angiotensin-aldosterone system of Nigerians with mild to moderate essential hypertension: a comparative study with lisinopril. *47*(5), 540-545.
- O'Toole, M. G., Henderson, R. M., Soucy, P. A., Fasciotta, B. H., Hoblitzell, P. J., Keynton, R. S. et al. (2012). Curcumin encapsulation in submicrometer spray-dried chitosan/tween 20 particles. *13*(8), 2309-2314.
- Ochoa-Velasco, C., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S., Guerrero-Beltrán, J. J. J. o. f. s., & technology. (2017). Antioxidant characteristics of extracts of Hibiscus sabdariffa calyces encapsulated with mesquite gum. *54*, 1747-1756.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. J. J. o. e. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin-and cyanidin-3-O-sambubiosides from Hibiscus sabdariffa. *127*(1), 7-10.
- Oliyaeei, N., Moosavi-Nasab, M., Tamaddon, A. M., & Fazaeei, M. (2020). Double encapsulation of fucoxanthin using porous starch through sequential coating modification with maltodextrin and gum Arabic. *Food Science and Nutrition*, *8*(2), 1226-1236.
- Orozco-Beltrán, D., Brotons Cuixart, C., Banegas Banegas, J. R., Gil Guillén, V. F., Cebrián Cuenca, A. M., Martín Rioboó, E. et al. (2022). Cardiovascular preventive recommendations. PAPPS 2022 thematic updates. Working groups of the PAPPS. *Atencion Primaria*, *54*.
- Özen, T., & Kinalioğlu, K. J. B. (2008). Determination of antioxidant activity of various extracts of Parmelia saxatilis. *63*(2), 211-216.
- Palma-Rodríguez, H. M., Alvarez-Ramírez, J., & Vargas-Torres, A. J. S. S. (2018). Using modified starch/maltodextrin microparticles for enhancing the shelf life of ascorbic acid by the spray-drying method. *70*(7-8), 1700323.
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. J. F. c. (2011). Stability and release properties of curcumin encapsulated in Saccharomyces cerevisiae, β -cyclodextrin and modified starch. *125*(3), 913-922.
- Paredes-López, O., Bello-Perez, L. A., & López, M. J. F. c. (1994). Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *50*(4), 411-417.
- Paredes-López, O., Schevenin, M., Hernández-López, D., & Cárabez-Trejo, A. J. S. S. (1989). Amaranth starch-isolation and partial characterization. *41*(6), 205-207.
- Park, H. R., Rho, S.-J., & Kim, Y.-R. J. F. H. (2019). Solubility, stability, and bioaccessibility improvement of curcumin encapsulated using 4- α -glucanotransferase-modified rice starch with reversible pH-induced aggregation property. *95*, 19-32.
- Park, S. H., Na, Y., Kim, J., Kang, S. D., Park, K.-H. J. F. s., & biotechnology. (2018). Properties and applications of starch modifying enzymes for use in the baking industry. *27*, 299-312.
- Pascual-Teresa, D., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. J. I. j. o. m. s. (2010). Flavanols and

- anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *11*(4), 1679-1703.
- Pashazadeh, H., Zannou, O., Ghellam, M., Koca, I., Galanakis, C. M., & Aldawoud, T. M. J. F. (2021). Optimization and encapsulation of phenolic compounds extracted from maize waste by freeze-drying, spray-drying, and microwave-drying using maltodextrin. *10*(6), 1396.
- Pasrija, D., Ezhilarasi, P., Indrani, D., Anandharamakrishnan, C. J. L.-F. S., & Technology. (2015). Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. *64*(1), 289-296.
- Patel, A. S., Kar, A., & Mohapatra, D. J. S. R. (2020). Development of microencapsulated anthocyanin-rich powder using soy protein isolate, jackfruit seed starch and an emulsifier (NBRE-15) as encapsulating materials. *10*(1), 10198.
- Patel, S. (2014). Hibiscus sabdariffa: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine and Preventive Nutrition*, *4*(1), 23-27.
- Paulo, F., Santos, L. J. M. S., & C, E. (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *77*, 1327-1340.
- Peighambardoust, S. H., Beigmohammadi, F., & Peighambardoust, S. J. (2016). Application of Organoclay Nanoparticle in Low-Density Polyethylene Films for Packaging of UF Cheese. *Packaging Technology and Science*, *29*(7), 355-363.
- Pellicer, J. A., Fortea, M. I., Trabal, J., Rodríguez-López, M. I., Carazo-Díaz, C., Gabaldón, J. A. et al. (2018). Optimization of the microencapsulation of synthetic strawberry flavour with different blends of encapsulating agents using spray drying. *338*, 591-598.
- Peñalva, R., Morales, J., González-Navarro, C. J., Larrañeta, E., Quincoces, G., Peñuelas, I. et al. (2018). Increased oral bioavailability of resveratrol by its encapsulation in casein nanoparticles. *19*(9), 2816.
- Piloni, R. V., Bordón, M. G., Barrera, G. N., Martínez, M. L., & Ribotta, P. D. J. F. (2022). Porous microparticles of corn starch as bio-carriers for chia oil. *11*(24), 4022.
- Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., Nuñez, M. J., & Nicoli, M. C. J. F. c. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *92*(1), 109-117.
- Poshadri, A., & Aparna Kuna, A. K. (2010). Microencapsulation technology: a review.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S., & Shahabimajd, N. J. A. j. o. b. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *5*(11).
- Purwitasari, L., Wulanjati, M. P., Pranoto, Y., & Witasari, L. D. J. F. C. A. (2023). Characterization of porous starch from edible canna (*Canna edulis* Kerr.) produced by enzymatic hydrolysis using thermostable α -amylase. *2*, 100152.
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids*, *51*, 327-337.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. J. F. r. b. et al. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *26*(9-10), 1231-1237.
- Rehman, A., Ahmad, T., Aadil, R. M., Spotti, M. J., Bakry, A. M., Khan, I. M. et al. (2019). Pectin polymers as wall materials for the nano-encapsulation of bioactive compounds. *90*, 35-46.
- Reineccius, G. J. F. h. (2019). Use of proteins for the delivery of flavours and other bioactive compounds. *86*, 62-69.
- Rezaei, A., Fathi, M., & Jafari, S. M. J. F. h. (2019). Nanoencapsulation of hydrophobic and

- low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. 88, 146-162.
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 102, 575-586.
- Riazi, K., Azhari, H., Charette, J. H., Underwood, F. E., King, J. A., Afshar, E. E. et al. (2022). The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 7(9), 851-861.
- Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P. J. C. r. i. f. s., & nutrition. (2018). Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. 58(15), 2531-2548.
- Ribeiro, A. M., Shahgol, M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. J. F. H. (2020). Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. 108, 106029.
- Righi da Rosa, J., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rychecki Hecktheuer, L. H. et al. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742-748.
- Rios-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. A. J. T. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. 24(51), 206-229.
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., Saenz, C. J. I. j. o. f. s. et al. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. 45(7), 1386-1394.
- Roldán-Marín, E., Sánchez-Moreno, C., Lloría, R., de Ancos, B., Cano, M. P. J. L.-F. S., & Technology. (2009). Onion high-pressure processing: Flavonol content and antioxidant activity. 42(4), 835-841.
- Rosales-Chimal, S., Navarro-Cortez, R. O., Bello-Perez, L. A., Vargas-Torres, A., & Palma-Rodríguez, H. M. J. I. J. o. B. M. (2023). Optimal conditions for anthocyanin extract microencapsulation in taro starch: Physicochemical characterization and bioaccessibility in gastrointestinal conditions. 227, 83-92.
- Ruiz Canizales, J., Velderrain Rodríguez, G. R., Domínguez Avila, J. A., Preciado Saldaña, A. M., Alvarez Parrilla, E., Villegas Ochoa, M. A. et al. (2019). Encapsulation to Protect Different Bioactives to Be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients. In *Reference Series in Phytochemistry*, (pp. 2163-2182).
- Salami, S. O., & Afolayan, A. J. (2021). Evaluation of nutritional and elemental compositions of green and red cultivars of roselle: *Hibiscus sabdariffa* L. *Scientific Reports*, 11(1).
- Salmerón-Ruiz, M. L., Domínguez-Avila, J. A., Ayala-Zavala, J. F., Alvarez-Parrilla, E., Villegas-Ochoa, M. A., Sáyago-Ayerdi, S. G. et al. (2019). Optimization of total anthocyanin content and antioxidant activity of a *Hibiscus sabdariffa* infusion using response surface methodology. 21(2), 114-122.
- Sandhu, K. S., & Singh, N. J. F. c. (2007). Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. 101(4), 1499-1507.
- Sanou, A., Konaté, K., Kabakde, K., Dakuyo, R., Bazié, D., Hemayoro, S. et al. (2023). Modelling and optimisation of ultrasound-assisted extraction of roselle phenolic compounds using the surface response method. 13(1), 358.
- Santana, A. A., Cano-Higueta, D. M., De Oliveira, R. A., & Telis, V. R. J. F. c. (2016). Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp (*Euterpe edulis*) by spray drying. 212, 1-9.
- Sarabandi, K., Mahoonak, A. S., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. J. J. o. F. E.

- (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. *237*, 86-95.
- Sarr, M., Ngom, S., Kane, M. O., Wele, A., Diop, D., Sarr, B. et al. (2009). In vitro vasorelaxation mechanisms of bioactive compounds extracted from *Hibiscus sabdariffa* on rat thoracic aorta. *6*, 1-12.
- Sathyan, S., & Nisha, P. (2022). Optimization and Characterization of Porous Starch from Corn Starch and Application Studies in Emulsion Stabilization. *Food and Bioprocess Technology*, *15*(9), 2084-2099.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, *18*, 820-897.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. J. J. o. f. f. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *18*, 820-897.
- Shahidi, F., Han, X. Q. J. C. R. i. F. S., & Nutrition. (1993). Encapsulation of food ingredients. *33*(6), 501-547.
- Sharifi, S., Rezazad-Bari, M., Alizadeh, M., Almasi, H., & Amiri, S. J. F. H. (2021). Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese. *113*, 106496.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J. C., Bryan, M., & Wu, Y. J. J. F. A. E. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *1*(2), 42-47.
- Shishir, M. R. I., & Chen, W. (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology*, *65*, 49-67.
- Shishir, M. R. I., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., Chen, W. J. T. i. F. S., & Technology. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *78*, 34-60.
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. J. F. C. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *214*, 234-241.
- Singh, R. K., Sureja, A. K., & Singh, D. (2006). Amta and amti (*Hibiscus sabdariffa* L.)-cultural and agricultural dynamics of agrobiodiversity conservation.
- Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., & Trombetta, D. J. P. r. (2016). Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *30*(8), 1265-1286.
- Soltanzadeh, M., Peighambaroust, S. H., Ghanbarzadeh, B., Amjadi, S., Mohammadi, M., Lorenzo, J. M. et al. (2022). Active gelatin/cress seed gum-based films reinforced with chitosan nanoparticles encapsulating pomegranate peel extract: Preparation and characterization. *Food Hydrocolloids*, *129*.
- Sotomayor, M. F., & Vargas, D. A. (2017). *Optimización de extracción, microencapsulación y evaluación de la capacidad antioxidante de antocianinas de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa) mediante secado por aspersión*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2017.
- Srichuwong, S., Jane, J.-I. J. F. s., & biotechnology. (2007). Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *16*(5), 663-674.
- Stanaway, J. D., Afshin, A., Gakidou, E., Lim, S. S., Abate, D., Abate, K. H. et al. (2018). Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries

- and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 392(10159), 1923-1994.
- Suganya, V., & Anuradha, V. J. I. J. P. C. R. (2017). Microencapsulation and nanoencapsulation: a review. 9(3), 233-239.
- Sumarni, N., Puspitasari, D., Sulastri, E., Rahim, E., & Mauru, Y. (2019). Microcapsule efficiency of ethanol extract of rosella petal flower (*hibiscus sabdariffa* linn) coated crude carrageenan (*Eucheuma cottony*). In *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 1280 (pp. 022074): IOP Publishing.
- Talou, M. H., Villar, M. A., Camerucci, M. A., & Moreno, R. J. J. o. t. E. C. S. (2011). Rheology of aqueous mullite–starch suspensions. 31(9), 1563-1571.
- Tan, S. P., Tuyen, C. K., Parks, S. E., Stathopoulos, C. E., & Roach, P. D. J. P. T. (2015). Effects of the spray-drying temperatures on the physiochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. 281, 65-75.
- Tan, Y. T., Ngoh, G. C., & Chua, A. S. M. J. B. t. (2019). Effect of functional groups in acid constituent of deep eutectic solvent for extraction of reactive lignin. 281, 359-366.
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. J. C. P. (2003). Starch-based spherical aggregates: screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound, vanillin. 53(1), 45-51.
- Temiz, U., Öztürk, E. J. S. J. o. A., & Sciences, F. (2018). Encapsulation methods and use in animal nutrition. 32(3), 624-631.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. J. W. s. P. S. J. (2004). Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. 60(2), 186-195.
- Tester, R. F., & Morrison, W. R. J. C. c. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. 67(6), 551-557.
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. J. J. o. b. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. 239, 23-33.
- Tseng, R.-L., Tseng, S.-K. J. J. o. C., & Science, i. (2005). Pore structure and adsorption performance of the KOH-activated carbons prepared from corncob. 287(2), 428-437.
- Tupuna, D. S., Paese, K., Guterres, S. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., & Rios, A. d. O. (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.
- Uthumporn, U., Karim, A., Fazilah, A. J. I. c., & products. (2013). Defatting improves the hydrolysis of granular starch using a mixture of fungal amylolytic enzymes. 43, 441-449.
- Vanegas-Espinoza, P. E., Pérez-Escalante, V., Aguirre-Guzman, G., Hoyos-Leyva, J. D., & Del Villar-Martínez, A. A. J. A. i. (2019). Microencapsulation of anthocyanins from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and its application on a pigment supplied diet to fantail goldfish (*Carassius auratus*). 27, 1801-1811.
- Vargas-León, E. A., Díaz-Batalla, L., González-Cruz, L., Bernardino-Nicanor, A., Castro-Rosas, J., Reynoso-Camacho, R. et al. (2018). Effects of acid hydrolysis on the free radical scavenging capacity and inhibitory activity of the angiotensin converting enzyme of phenolic compounds of two varieties of jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 116, 201-208.
- Vargas-León, E. A., Díaz-Batalla, L., González-Cruz, L., Bernardino-Nicanor, A., Castro-Rosas, J., Reynoso-Camacho, R. et al. (2018). Effects of acid hydrolysis on the free radical scavenging capacity and inhibitory activity of the angiotensin converting enzyme of

- phenolic compounds of two varieties of jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). *116*, 201-208.
- Vijeth, S., Heggannavar, G. B., Kariduraganavar, M. Y. J. M.-p., technologies, & applications, i. (2019). Encapsulating wall materials for micro-/nanocapsules. 1-19.
- Villalobos-Vega, M. J., Rodríguez-Rodríguez, G., Armijo-Montes, O., Jiménez-Bonilla, P., & Álvarez-Valverde, V. J. M. (2023). Optimization of the extraction of antioxidant compounds from roselle hibiscus calyxes (*Hibiscus sabdariffa*), as a source of nutraceutical beverages. *28*(6), 2628.
- Vinceković, M., Viskiće, M., Jurić, S., Giacometti, J., Kovačević, D. B., Putnik, P. et al. (2017). Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. *69*, 1-12.
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. J. F. (2019). Anthocyanins—nature’s bold, beautiful, and health-promoting colors. In, vol. 8 (pp. 550): MDPI.
- Walton, R. J., Whitten, D. L., & Hawrelak, J. A. J. A. j. o. h. m. (2016). The efficacy of *Hibiscus sabdariffa* (rosella) in essential hypertension: A systematic review of clinical trials. *28*(2), 48-51.
- Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E. J. E. t. f. a. f. i., & processing, f. (2010). Materials for encapsulation. 31-100.
- Wang, H., Lv, J., Jiang, S., Niu, B., Pang, M., & Jiang, S. J. S. S. (2016). Preparation and characterization of porous corn starch and its adsorption toward grape seed proanthocyanidins. *68*(11-12), 1254-1263.
- Wang, L., & White, P. J. C. C. (1994). from Oats with Different Lipid Contents'. *71*(5), 443-450.
- Wang, Z., Chen, Z., Zhang, L., Wang, X., Hao, G., Zhang, Z. et al. (2018). Status of hypertension in China: Results from the China hypertension survey, 2012-2015. *Circulation*, *137*(22), 2344-2356.
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Rosei, E. A., Azizi, M., Burnier, M. et al. (2018). 2018 practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European society of cardiology and the European society of hypertension ESC/ESH task force for the management of arterial hypertension. *Journal of Hypertension*, *36*(12), 2284-2309.
- Witasari, L. D., Heryadi, A. A., Yani, A. I. T., Nisrina, S., Purwitasari, L., Pranoto, Y. J. B. et al. (2024). Characterization of porous starch produced from edible canna (*Canna edulis* Kerr.) via enzymatic hydrolysis using thermostable α -amylase and glucoamylase. *55*, 102990.
- Wright, C., Van-Buren, L., Kroner, C., & Koning, M. J. J. o. e. (2007). Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. *114*(1), 1-31.
- Wu, H., Li, T., Peng, L., Wang, J., Lei, Y., Li, S. et al. (2023). Development and characterization of antioxidant composite films based on starch and gelatin incorporating resveratrol fabricated by extrusion compression moulding. *139*, 108509.
- Wu, L., Tian, J., Ye, X., Fang, H., Zhang, Z., Xu, C. et al. (2021). Encapsulation and release of curcumin with the mixture of porous rice starch and xanthan gum. *73*(1-2), 2000042.
- Xie, Y., Zhang, B., Li, M.-N., & Chen, H.-Q. J. F. C. (2019). Effects of cross-linking with sodium trimetaphosphate on structural and adsorptive properties of porous wheat starches. *289*, 187-194.
- Xing, L., Jing, L., Tian, Y., Yan, H., Zhang, B., Sun, Q. et al. (2020). Epidemiology of dyslipidemia and associated cardiovascular risk factors in northeast China: A cross-sectional study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *30*(12), 2262-2270.
- Xu, Y., Yan, X., Zheng, H., Li, J., Wu, X., Xu, J. et al. (2024). The application of encapsulation technology in the food Industry: Classifications, recent Advances, and perspectives. *Food*

- Chemistry: X*, 21, 101240.
- Xue, J., Su, F., Meng, Y., Guo, Y. J. J. o. t. S. o. F., & Agriculture. (2019). Enhanced stability of red-fleshed apple anthocyanins by copigmentation and encapsulation. *99*(7), 3381-3390.
- Yang, Z., Wang, Q., Liu, Y., Wang, L., Ge, Z., Li, Z. et al. (2023). Gut microbiota and hypertension: association, mechanisms and treatment. *Clinical and Experimental Hypertension*, *45*(1).
- Yang, Z., Xie, F., & Cai, J. (2024). Advances in the delivery of bioactive compounds using starch-based nanogels: Formation mechanism, contemporary challenges, and prospects. *Journal of Agriculture and Food Research*, *16*.
- Ye, J., Liu, C., Luo, S., Hu, X., & McClements, D. J. J. F. R. I. (2018). Modification of the digestibility of extruded rice starch by enzyme treatment (β -amylolysis): An in vitro study. *111*, 590-596.
- Yousif, E., Gadallah, M. E., & Sorour, A. M. J. A. o. A. S. (2012). Physico-chemical and rheological properties of modified corn starches and its effect on noodle quality. *57*(1), 19-27.
- Zhang, B., Cui, D., Liu, M., Gong, H., Huang, Y., & Han, F. J. I. j. o. b. m. (2012). Corn porous starch: Preparation, characterization and adsorption property. *50*(1), 250-256.
- Zhang, J., Hassane Hamadou, A., Chen, C., Xu, B. J. C. r. i. F. s., & nutrition. (2023). Encapsulation of phenolic compounds within food-grade carriers and delivery systems by pH-driven method: A systematic review. *63*(19), 4153-4174.
- Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliveira, H., Yang, N., Jin, W. et al. (2020). Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. *123*, 109097.
- Zhang, S., & Wang, T. J. C. P. (2023). Preparation of enzymolysis porous corn starch composite microcapsules embedding organic sunscreen agents and its UV protection performance and stability. *314*, 120903.
- Zhao, G., Zhang, R., Zhang, M. J. I. J. o. F. S., & Technology. (2017). Effects of high hydrostatic pressure processing and subsequent storage on phenolic contents and antioxidant activity in fruit and vegetable products. *52*(1), 3-12.
- Zhao, J., & Whistler, R. L. J. F. t. (1994). Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *48*(7), 104-105.