



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

---

Instituto de Ciencias de la Salud  
Instituto de Ciencias Básicas e ingeniería  
Instituto de Ciencias Agropecuarias

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

TESIS DOCTORAL

Optimización de la encapsulación de antocianinas con almidón de malanga aplicando el análisis de superficie de respuesta: caracterización fisicoquímica y funcional

Para obtener el título de  
Doctora en Ciencia de los Alimentos y Salud Humana

PRESENTA

M. en C. Sylvia Rosales Chimal

No de cuenta: 146321

Directora:

Dra. Heidi María Palma Rodríguez

Codirectora:

Dra. Rubí Guadalupe Utrilla Coello

San Agustín, Tlaxiaca, Hgo.28, Noviembre 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Medical Sciences

Área Académica de Nutrición

Department of Nutrition

ICSa-DCASH-noviembre 2023  
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 M. en C. Sylvia Rosales Chimal con número de cuenta 146321 estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana ha terminado el trabajo de tesis titulado "Optimización de la encapsulación de antocianinas con almidón de malanga aplicando el análisis de superficie de respuesta: caracterización fisicoquímica y funcional", 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, la estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 05 de noviembre 2023.

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

DRA. RUBÍ GUADALUPE UTRILLA COELLO  
Codirectora

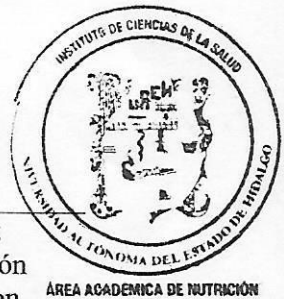
DR. JUAN PABLO HERNÁNDEZ URIBE

DRA. RAQUEL CARIÑO CORTÉS

ATENTAMENTE  
Pachuca, Hidalgo, 27 de noviembre de 2023  
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro Enrique Espinosa Aquino  
Director del Instituto de Ciencias de la Salud  
Dean

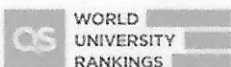
Dra. Guadalupe López Rodríguez  
Jefa del Área Académica de Nutrición  
Chair of Academic Area of Nutrition



Dra. Lydia López Pontigo  
Coordinadora de Posgrado del ICSa  
Director of Graduate Studies of ICSa

Dra. Teresita de Jesús Saucedo Molina  
Representante del Programa Educativo ICSa  
Director 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. 4322,4321  
nutricion@uaeh.edu.mx



## **Dedicatoria y agradecimientos**

Para hacer posible la siguiente investigación fue necesario el apoyo de diversas instituciones, instancias y académicos.

A mi directora de Tesis, Dra. Heidi M. Palma Rodríguez, por su generosidad al bríndame la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la realización de este trabajo; por mostrarme que es siempre es mejor trabajar en un ambiente de tranquilidad, esfuerzo y constancia, para lograr nuestros objetivos; le agradeceré siempre por abrirme las puertas en su cuerpo académico, y por confiar en mí a pesar de tener una formación diferente, siempre reconoceré a la vida por trabajar a su lado y aprender tanto de una mujer científica como usted.

A todo el comité de evaluación de tesis, gracias por todas las aportaciones en la elaboración y desarrollo de esta investigación, qué más allá de los aspectos académicos han podido formar parte de mi alineación como investigadora comprometida con la ciencia.

A todo el equipo de nuestro cuerpo académico por el apoyo técnico, por su acompañamiento, risas y buenos momentos, sé que pronto nos volveremos a encontrar y será gratificante poder coincidir, sobre todo por los Dres Apolonio Vargas, Juan Pablo Hernández y Ricardo Navarro, gracias por todas las aportaciones científicas y hacerme sentir parte de su gran labor en las aportaciones en la ciencia en temas tan innovadores y productivos.

A Sylvia Chimal, por estar, eres mi ejemplo y mi gran inspiración de una mujer admirable que es capaz de equivocarse, corregir y seguir a pesar de los problemas a los que nos enfrentamos. A José Manuel, gracias por las lecciones constantes en la vida, por tus extrañas y particulares formas de querer, por las lecciones que hemos aprendido juntos y a la distancia, porqué ambos sabemos que este es nuestro mejor momento, y que sí estas cerquita habrá todo para garantizar la alegría. Gracias por hacerme sentir merecedora de todo lo bonito, por compartir el pensamiento de revolución, disidencia y evolución. Los amo siempre.

A mis hermanos y padres, gracias son ejemplo y guía.

## **Reconocimientos**

Durante el desarrollo de estos estudios, se contó con una beca de manutención otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT)



## Contenido

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ABREVIATURAS .....	xiv
RESUMEN.....	16
ABSTRACT .....	17
INTRODUCCIÓN.....	18
ANTECEDENTES .....	20
2.1    Antocianinas .....	20
2.1.1    Biosíntesis de las antocianinas .....	21
2.1.2    Coloración de antocianinas.....	23
2.1.2.1 Glicosilación.....	23
2.1.2.1 Acilación.....	23
2.1.3    Estabilidad de las antocianinas.....	24
2.1.3.1    La influencia del pH .....	25
2.1.3.2    Efecto de co-pigmentación .....	25
2.1.3.3    Temperatura .....	26
2.1.3.4    Oxígeno.....	27
2.1.3.5    Ácido ascórbico .....	27
2.1.3.6    Luz .....	28
2.1.3.7    Enzimas.....	28
2.1.4    Mecanismos de acción en procesos metabólicos de HCO .....	29
2.2    Microencapsulación de antocianinas .....	30
2.2.1    Secado por aspersion .....	37
2.2.2    Material pared: Almidón nativo .....	39
2.3    Almidón de malanga.....	41

2.3.1	Características.....	42
2.3.2	Contenido de amilosa y amilopectina.....	43
2.3.3	Morfología.....	44
2.3.4	Características fisicoquímicas .....	45
2.3.5	Evidencia del almidón nativo de malanga como material pared .....	47
JUSTIFICACION.....		50
OBJETIVOS.....		51
4.1	Objetivo General.....	51
4.2	Objetivos específicos .....	51
MATERIAL Y MÉTODOS .....		52
5.1	Materiales.....	52
5.2	Aislamiento del almidón y evaluación de pureza (Fase I).....	54
5.2.1	Obtención del almidón .....	54
5.2.2	Pureza del almidón .....	54
5.2.3	Amilosa aparente .....	55
5.2.4	Caracterización morfológica del almidón de malanga .....	55
5.2.4.1	Microscopía electrónica de barrido (MEB) .....	55
5.2.5	Caracterización estructural del almidón .....	55
5.2.5.1	Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR) .....	55
5.2.6	Caracterización fisicoquímica del almidón .....	56
5.2.6.1	Gelatinización .....	56
5.2.6.2	Análisis rápido de viscosidad (ARV) .....	56
5.2.7	Cuantificación de compuestos bioactivos.....	56
5.2.7.1	Determinación de compuestos fenólicos .....	56
5.2.7.2	Determinación de antocianinas monoméricas .....	57

5.2.8	Actividad antioxidante.....	57
5.2.8.1	ABTS <sup>+</sup> .....	57
5.2.8.2	DPPH <sup>+</sup> .....	58
5.3	Microencapsulación de antocianinas (Fase II).....	58
5.3.1	Diseño experimental compuesto rotable .....	58
5.3.2	Optimización .....	59
5.3.3	Eficiencia de encapsulación.....	60
5.3.4	Evaluación de estabilidad de las microcápsulas .....	61
5.3.4.1	Prueba de envejecimiento acelerado.....	61
5.3.5	Caracterización morfológica .....	61
5.3.5.1	MEB.....	61
5.3.6	Caracterización fisicoquímica .....	61
5.3.6.1	Humedad.....	61
5.3.6.2	Actividad de agua (a <sub>w</sub> ) .....	61
5.3.7	Cuantificación de compuestos bioactivos.....	62
5.3.7.1	Compuestos fenólicos .....	62
5.3.7.2	Antocianinas .....	62
5.3.8	Determinación de actividad antioxidante .....	62
5.4	Bioaccesibilidad, actividad biológica y ante estrés oxidativo (Fase III) .....	63
5.4.1	Bioaccesibilidad de antocianinas encapsuladas bajo condiciones gastrointestinales .....	63
5.5	Inhibición de actividad enzimática .....	63
5.6	Proyección virtual .....	65
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	65
	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	66

7.1	Almidón y extracto de antocianinas (Fase I) .....	66
7.1.1	Aislamiento del almidón.....	66
7.1.2	Pureza del almidón .....	66
7.1.3	Contenido de amilosa aparente.....	67
7.1.4	Caracterización morfológica del almidón .....	68
7.1.4.1	MEB.....	68
7.1.5	Caracterización estructural del almidón .....	70
7.1.5.1	FTIR.....	70
7.1.5.2	Gelatinización .....	71
7.1.5.3	Análisis Rápido de Viscosidad (ARV) .....	72
7.1.6	Cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto de antocianinas .....	74
7.1.7	Compuestos fenólicos.....	74
7.1.6.1	Antocianinas totales.....	75
7.1.6.2	Actividad antioxidante (ABTS <sup>+</sup> y DPPH <sup>+</sup> ).....	75
7.2	Microencapsulación (Fase II).....	76
7.2.1	Rendimiento .....	78
7.2.2	Humedad.....	80
7.2.3	Actividad de Agua ( $a_w$ ).....	82
7.2.4	Contenido de compuestos activos: compuestos fenólicos y antocianinas totales	84
7.2.5	Actividad antioxidante: ABTS <sup>+</sup> y DPPH <sup>+</sup> .....	89
7.2.6	Estabilidad: Retención de compuestos activos y de actividad antioxidante...	92
7.3	Optimización del proceso de secado para la microencapsulación del extracto de antocianinas (Fase III) .....	94
7.3.1	Caracterización morfológica del optimizado.....	96



7.3.1.1	MEB .....	96
7.3.1.2	FTIR Extracto-ME optimizado .....	97
7.3.2	Estabilidad del optimizado .....	105
7.3.3	Bioaccesibilidad del optimizado.....	108
7.3.4	Actividad enzimática .....	112
7.3.5	Simulación molecular de acoplamiento.....	116
CONCLUSIONES .....		122
ANEXOS .....		123
REFERENCIAS .....		127

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de antocianidinas .....	21
<b>Figura 2.</b> Vía principal para la biosíntesis de antocianinas .....	22
<b>Figura 3.</b> Estructura de antocianina acilada.....	24
<b>Figura 4.</b> Microencapsulación de antocianinas .....	30
<b>Figura 5.</b> Esquema de varias morfologías de microencapsulación. A) microesfera, b) microcápsula monocapa mononuclear, C) microcápsula multicapa mononuclear, C) microcápsula multicapa multinúcleo E) micropartícula .....	32
<b>Figura 6.</b> Cadena lógica de encapsulación .....	32
<b>Figura 7.</b> Diagrama del funcionamiento del secador por aspersión.....	37
<b>Figura 8.</b> Diagrama de planeación experimental.....	53
<b>Figura 9.</b> imágenes de MEB de almidón nativo de malanga a x2000.....	69
<b>Figura 10.</b> Espectro FTIR de almidón de malanga.....	70
<b>Figura 11.</b> Termograma de almidón nativo de malanga .....	73
<b>Figura 12.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre el rendimiento (%) de ME. ....	79
<b>Figura 13.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre la humedad (%) de ME. ....	82
<b>Figura 14.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre $a_w$ (%) de ME.....	83
<b>Figura 15.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre el contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100 g) de ME .....	88
<b>Figura 16.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) de ME.....	88
<b>Figura 17.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre el porcentaje de inhibición de DPPH <sup>+</sup> de ME.....	90
<b>Figura 18.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre el porcentaje de inhibición de ABTS <sup>+</sup> de ME .....	91

<b>Figura 19.</b> Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) de ME.....	93
<b>Figura 20.</b> Deseabilidad del Modelo de Superficie de Respuesta con el Diseño Compuesto Rotable.....	94
<b>Figura 21.</b> Imágenes de MEB de extracto de antocianinas microencapsuladas (optimizadas) a x4000, x1000 y x2000.....	97
<b>Figura 22.</b> Espectro FTIR, extracto de antocianinas vs ME-optimizado.....	98
<b>Figura 23.</b> Espectros FTIR, extracto con ME optimizado en los grupos correspondientes a compuestos fenólicos y anillos aromáticos.....	99
<b>Figura 24.</b> FTIR correspondiente a la disminución de la señal de anillos pirano en el extracto vs ME optimizado.....	100
<b>Figura 25.</b> Espectro del almidón nativo de malanga vs ME-optimizado.....	100
<b>Figura 26.</b> FTIR de región amorfa y cristalina del almidón nativo vs ME-optimizado.....	101
<b>Figura 27.</b> Prototipo de interacción amilasa-antocianina.....	102
<b>Figura 28.</b> Deconvolución del almidón nativo vs ME-optimizado.....	103
<b>Figura 29.</b> FTIR correspondiente a la región Amida I del almidón nativo vs ME-optimizado.....	104
<b>Figura 30.</b> Retención de compuestos activos por semana de evaluación (envejecimiento acelerado).....	106
<b>Figura 31.</b> Bioaccesibilidad basal extracto vs microencapsulado optimizado.....	110
<b>Figura 32.</b> Bioaccesibilidad del microencapsulado optimizado por semana (6 semanas de evaluación).....	111
<b>Figura 33.</b> Porcentaje de liberación semanal de antocianinas totales y cinética de liberación ajustada a dos modelos.....	112
<b>Figura 34.</b> Porcentaje de inhibición de antocianinas (extracto) y ME.....	113
<b>Figura 35.</b> Velocidad de reacción extracto, ME-optimizado en comparación con la velocidad de la enzima amilasa.....	114
<b>Figura 36.</b> Gráfica de Lineweaver-Burk extracto sin encapsular y ME optimizado contra $\alpha$ -amilasa.....	115
<b>Figura 37.</b> Gráficas secundarias para la pendiente ( $K_i$ ) e intersección ( $K_{is}$ ) del extracto y del ME optimizado.....	116
<b>Figura 38.</b> A) Acoplamiento 3D entre malvidina y $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D.....	119
<b>Figura 39.</b> A) Acoplamiento 3D entre peonidina y $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D.....	120
<b>Figura 40.</b> A) Acoplamiento 3D entre petunidina y $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D.....	121

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Descripción general de las ventajas, desventajas y parámetros de variables de métodos de microencapsulación de antocianinas .....	33
<b>Tabla 2.</b> Diseño experimental central compuesto rotatable con dos variables independientes .....	60
<b>Tabla 3.</b> Caracterización del almidón nativo de malanga .....	68
<b>Tabla 4.</b> Parámetros de análisis de perfil térmico, mediciones realizadas al almidón nativo mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) .....	72
<b>Tabla 5.</b> Caracterización de extracto de antocianinas .....	74
<b>Tabla 6.</b> Caracterización basal del microencapsulado por tratamiento propuesto desde el diseño experimental compuesto rotatable .....	77
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del porcentaje del rendimiento del ME .....	78
<b>Tabla 8.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de rendimiento (%). .....	78
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del porcentaje de humedad del ME .....	80
<b>Tabla 10.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de humedad (%). .....	80
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas de la $a_w$ del ME .....	82
<b>Tabla 12.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de $a_w$ (%).....	83
<b>Tabla 13.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del contenido de compuestos fenólicos y antocianinas totales del ME .....	85
<b>Tabla 14.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta del contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100g).....	86
<b>Tabla 15.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas de ABTS <sup>+</sup> (% de inhibición) del ME .....	89

<b>Tabla 16.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de ABTS <sup>+</sup> (% de inhibición).....	89
<b>Tabla 17.</b> Análisis de varianza y coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> ) del modelo ajustado para las respuestas de la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) del ME.....	92
<b>Tabla 18.</b> Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g).....	92
<b>Tabla 19.</b> Caracterización física y química de micropartículas obtenidas en condiciones óptimas .....	96
<b>Tabla 20.</b> Área de picos deconvolucionados del almidón nativo vs ME-optimizado .....	104
<b>Tabla 21.</b> Cinética de degradación por compuestos activos y actividad antioxidante .....	107
<b>Tabla 22.</b> Efectos inhibitorios de las antocianinas en extracto y ME .....	116

## **ABREVIATURAS**

**μL:** microlitro

**Aa:** Área amorfa

**AC:** Área cristalina

**ACV:** Accidente cerebro vascular

**a-GLP:** Péptido similar al glucagón

**AMPK:** Proteína quinasa activada por AMP

**ARV:** Análisis rápido de viscosidad

**a<sub>w</sub>:** Actividad de agua

**C3G:** 3-glucósido de cianidina

**CDB:** Calorimetría diferencial de barrido

**CLAR:** Cromatografía líquida de alta resolución

**DM2:** Diabetes Mellitus

**EE:** Eficiencia específica

**g:** gramos

**GA:** Glicación avanzada

**GAE:** Equivalente de ácido gálico

**GI:** Gastrointestinal

**GLUT:** Glucotransportador

**I-DPP-4:** Inhibidor de dipeptidil peptidasa 4

**L:** litro

**m:** Masa

**MEB:** Microscopía electrónica de barrido

**mg:** miligramos

**mL:** mililitros

**NaCl:** Cloruro de sodio

**NaOH:** Hidróxido de sodio

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**p/p:** parte por parte

**Pb:** Densidad de bulto

**pH:** potencial de hidrógeno

**PI3K/AKT:** Vía fosfatidilinositol 3 kinasa

**ROS:** Especies Reactivas de Oxígeno

**rpm:** Revolución por minuto

**SJG:** Simulación de jugo gástrico

**SJI:** Simulación de jugo intestinal

**SU:** Sulfonilureas

**TEAC:** Capacidad antioxidante equivalente al Trolox

**TZD:** Tiazolidindionas

**v/v:** volumen/volumen

**V:** Volumen

## RESUMEN

**Introducción:** Las antocianinas son los compuestos fenólicos más efectivos, sin embargo, estos compuestos son sumamente susceptibles al daño, por lo que se han incorporado a sistemas de microencapsulación mediante secado por aspersión, que permite mantener su actividad funcional; utilizando almidón de malanga como material pared. **Objetivo:** Evaluar la bioactividad de antocianinas microencapsuladas con almidón nativo de malanga mediante secado por aspersión. **Métodos:** La microencapsulación se llevó a cabo en un secador por aspersión y el proceso se optimizó utilizando el método de superficie de respuesta (RSM), aplicando la concentración de almidón y la temperatura del aire de entrada como parámetros independientes; se evaluó la eficiencia de encapsulación, estabilidad, morfología, características fisicoquímicas ( $a_w$ , humedad), actividad enzimática (inhibición de  $\alpha$ -amilasa), actividad antioxidante (ABTS+ y DPPH) y se evaluó la actividad metabólica a partir del análisis basado en estructuras (docking) **Resultados:** La concentración de sólidos de 20,9% y la temperatura de entrada de 125 °C fueron las condiciones óptimas para obtener microcápsulas optimizadas. Rendimiento (70,1%), contenido de humedad (5,2%), actividad de agua (0,211), contenido de compuestos fenólicos (797,8 mg EAG/g), antocianinas (469,4 mg EC-3G/g), ABTS (116,2 mg EAA/g) y DPPH (104,4 mg EAA/g) fueron las características fisicoquímicas y de bioaccesibilidad investigadas a través del análisis RSM. El porcentaje de retención en MO mostró valores de 60% en compuestos bioactivos hasta cuatro semanas de almacenamiento en condiciones de almacenamiento acelerado. El porcentaje de bioaccesibilidad de la MO fue un 10% superior al observado en el extracto sin encapsular durante la digestión gastrointestinal. Los resultados de este estudio muestran que la MO hecha con almidón de taro y obtenida con RSM protege eficazmente durante la digestión y asegura la estabilidad del compuesto bioactivo durante el almacenamiento, el ME presentó un IC50 de 3.8 g, con un tipo de inhibición mixto. **Conclusiones:** se obtuvo un ME optimizado con más del 90% de asertividad, con estabilidad a condiciones ambientales, la liberación del extracto presentó control y una cinética de primer orden, el modelado molecular reveló la interacción de antocianinas con residuos de aminoácidos.

**Palabras clave:** microencapsulación, antocianinas, control glucémico, almidón nativo, malanga



## ABSTRACT

**Introduction:** Anthocyanins are the most effective phenolic compounds, however, these compounds are highly susceptible to damage, so they have been incorporated into microencapsulation systems by spray drying, which allows maintaining their functional activity; using malanga starch as a wall material. **Objetive:** To evaluate the bioactivity of anthocyanins microencapsulated with native malanga starch by spray drying. **Methods:** Microencapsulation was carried out in a spray dryer and the process was optimized using the response surface method (RSM), applying starch concentration and inlet air temperature as independent parameters; encapsulation efficiency, stability, morphology, physicochemical characteristics (aw, humidity), enzymatic activity ( $\alpha$ -amylase inhibition), antioxidant activity (ABTS+ and DPPH) and metabolic activity were evaluated from structure-based analysis (docking) **Results:** Solids concentration of 20.9% and inlet temperature of 125 °C were the optimal conditions to obtain optimized microcapsules. Yield (70.1%), moisture content (5.2%), water activity (0.211), phenolic compounds content (797.8 mg EAG/g), anthocyanins (469.4 mg EC-3G/g), ABTS (116.2 mg EAA/g) and DPPH (104.4 mg EAA/g) were the physicochemical and bioaccessibility characteristics investigated through RSM analysis. The percentage of retention in MO showed values of 60% in bioactive compounds up to four weeks of storage under accelerated storage conditions. The percentage bioaccessibility of MO was 10% higher than that observed in the unencapsulated extract during gastrointestinal digestion. The results of this study show that the MO made with taro starch and obtained with RSM effectively protects during digestion and ensures the stability of the bioactive compound during storage, the ME presented an IC<sub>50</sub> of 3.8 g, with a mixed inhibition type. **Conclusions:** an optimized ME was obtained with more than 90% assertivity, with stability at ambient conditions, the release of the extract presented control and first order kinetics, the molecular modeling revealed the interaction of anthocyanins with amino acid residues. **Keywords:** microencapsulation, anthocyanins, glycemic control, native starch, malanga.

## INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son pigmentos vegetales naturales que otorgan color rojo y púrpura a bayas, frutas, verduras y tubérculos; su efecto está relacionado con el metabolismo de los carbohidratos y disminución de los factores de riesgo de trastornos metabólicos como la resistencia a la insulina y la DM, pero su uso industrial está limitado por su estabilidad química (Jokioja et al., 2021). Su aplicación limitada se debe a su alta sensibilidad a factores como temperatura, pH, humedad, luz, iones metálicos, digestión de enzimas e interacciones con copigmentos; dificultando su aplicación en una matriz alimentaria (Fredes, et al., 2018). Estos compuestos se absorben a nivel entérico, sin embargo, su bioaccesibilidad se ve limitada debido a su alta vulnerabilidad estructural al ser sometida al medio gastrointestinal (Liu et al., 2014).

La protección de las antocianinas es uno de los objetivos principales en varias investigaciones para encontrar las condiciones óptimas para mantener la mayor viabilidad y capacidad antioxidante durante la digestión, que garantice su función biológica (André et al., 2009; Vinson, 2019; Xing et al., 2019). Una de las opciones más asequibles es la microencapsulación; el proceso de encapsulación implica el empaquetamiento de compuestos bioactivos dentro de partículas estructuradas de uno o más materiales poliméricos utilizados como material de pared, brindándoles un entorno químico estable hasta su liberación en el momento y lugar deseados (Bakry et al., 2016; Veiga et al., 2019). El secado por aspersión es uno de los métodos comúnmente utilizados en el efecto protector de los compuestos bioactivos que utilizan almidones o gomas como material de pared (Ahmed et al., 2010; Cai et al., 2019; Cai & Corke, 2000). Al diseñar un protocolo de microencapsulado mediante secado por aspersión, la elección del material de pared es uno de los procesos más importantes. Los aspectos que deben evaluarse para el material pared son los estructurales, morfológicos, resistencia a la temperatura, estabilidad y afinidad con el compuesto bioactivo; así mismo estas evaluaciones permitirán evaluar el comportamiento de la liberación, bioaccesibilidad y biodisponibilidad; dichos materiales se dividen en polímeros y no polímeros solubles o no solubles en agua (Das et al., 2019).

En el caso de los polímeros nativos, una opción interesante es el de malanga. Variedad de estudios han informado que el almidón de malanga tiene un tamaño de gránulo de 1 a 2.2  $\mu\text{m}$ , con forma ovalada (Tari et al., 2003), con capacidad para formar agregados esféricos sin la adición de agentes aglutinantes (Hoyos -Leyva et al., 2018). Además, estos mismos autores mencionan que el almidón de malanga utilizado como material de pared para producir microcápsulas mediante secado por aspersion mejora la estabilidad física bajo diferentes condiciones de actividad del agua y temperaturas. Alfaro-Galarza et al. (2020) informan que las microcápsulas de almidón de malanga tienen un mejor efecto protector durante las condiciones gastrointestinales simuladas, debido al tamaño pequeño del gránulo y la aglomeración compacta de los gránulos en la formación de microcápsulas.

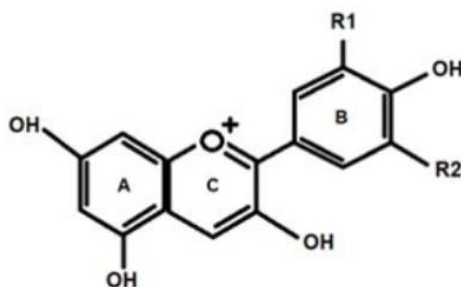
El objetivo de este trabajo es desarrollar un microencapsulado de antocianinas comerciales, utilizando almidón nativo de malanga, que ha demostrado ser un material adecuado y compatible con las características del compuesto activo; mediante secado por aspersion, a través de un modelo de superficie de respuesta por medio de un diseño central compuesto rotatable, que permita calcular las condiciones óptimas de secado, con la finalidad de obtener un sistema con alta eficiencia de encapsulación, estable a las condiciones de almacenamiento, y con una alta bioaccesibilidad, que sea una opción para poder ser incorporado en una matriz alimentaria y que posterior a las evaluaciones pertinentes pueda ser utilizada como tratamiento coadyuvante en patologías relacionadas con alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina y DM2.

## ANTECEDENTES

### 2.1 Antocianinas

Las antocianinas (del Griego *anthos*: flor y *kianos*: azul), pertenecen a la especie de compuestos fenólicos conocidos como flavonoides (Faridi Esfanjani et al., 2018). Son un grupo de fitopigmentos hidrosolubles con gran variedad de colores como rosa, rojo, naranja, morado y azul; dependiendo de su pH ambiental. Se encuentra en la mayoría de las flores y frutos, y en casi todos los tejidos vegetales (Santos-Buelga & González-Paramás, 2019; Santos-Buelga et al., 2014). Pueden definirse como heterósidos de una unidad de aglicona (antocianidinas) ligada a glucósido. Se encuentran en la naturaleza como derivados polihidroxi o polimetoxi glicosilados de flavilium o 2-fenil benzopirilo (Tarone et al., 2020). En los vegetales, las antocianinas se pueden sintetizar como respuesta ante condiciones de estrés, infección o patógenos, en las que tienen funciones de protección para el vegetal ocasionado por el daño oxidativo por la falta de irradiación cuando la capacidad de fijación de carbono es baja. Protegen los tejidos fotosintéticos absorbiendo la luz en el rango visible, reduciendo el estrés lumínico, aunado a su capacidad antioxidante (Lorenc-Kukuła et al., 2005).

La estructura básica de las antocianidinas es el catión flavilium (C6-C3-C6) que puede estar unido a varios azúcares, hidroxilos y grupos metoxilo (**Figura 1**); de hecho, la estructura de las antocianinas puede variar debido a la diferencia en el número y posición de los hidroxilos y el grado de los grupos metoxilo en la molécula; el tipo, número y posiciones del glucósido adjunto; y la naturaleza, número y extensión de los ácidos alifáticos o aromáticos unidos al glucósido. Si bien la glucosa es el glucósido más común unido a las antocianinas, también se ha reportado de otros como la ramnosa, xilosa, galactosa, arabinosa y rutina. Según la cantidad de azúcares adheridos, las antocianinas pueden ser mono, di o triglucósidos (Guldiken et al., 2018). Las agliconas de las antocianinas se conocen como antocianidinas, hasta el momento se han descrito 23 tipos, siendo las más comunes la cianidina, delfinidina, pelargonidina, malvidina, peonidina y la petunidina (Castañeda-Ovando et al., 2009).

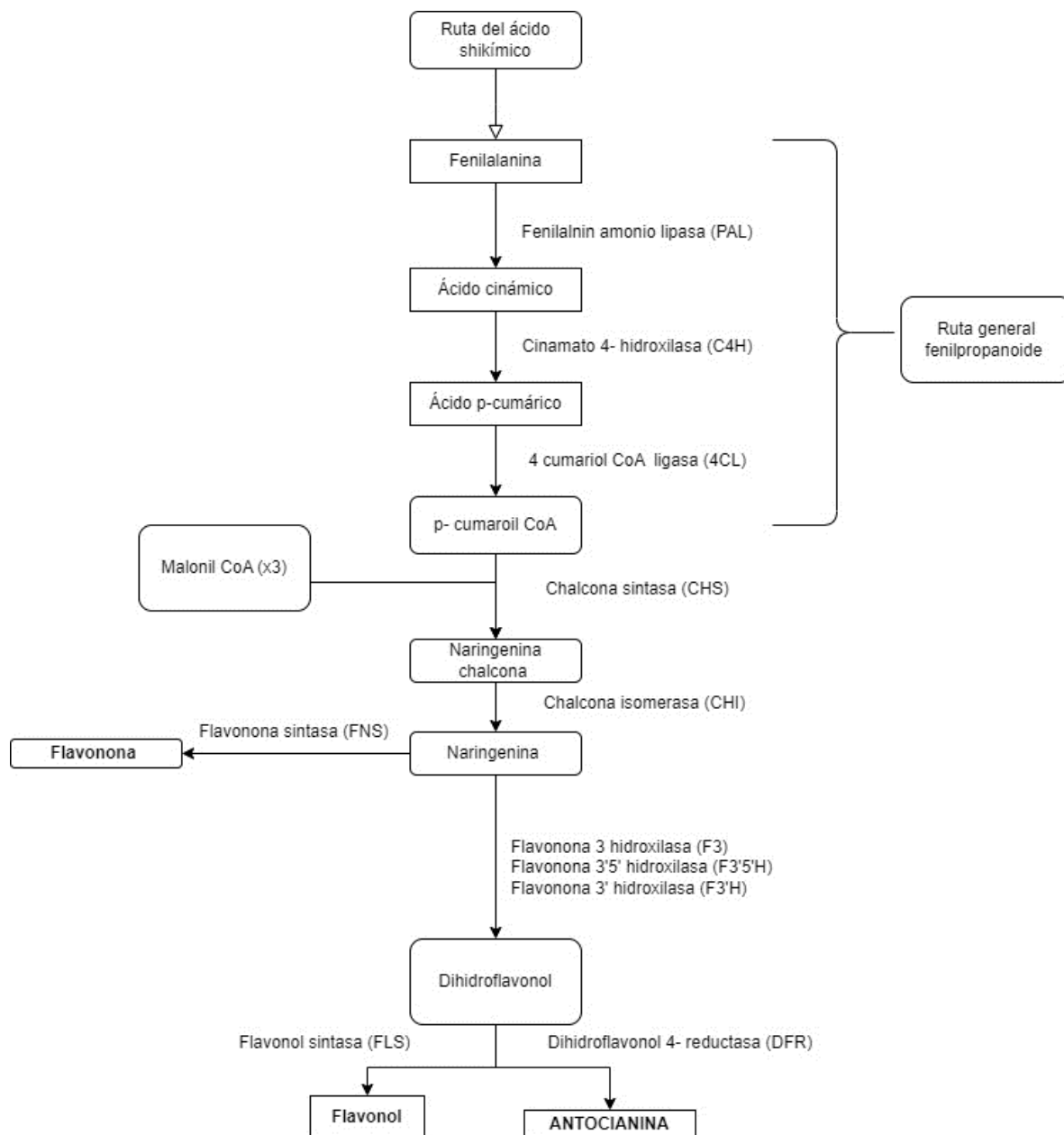


**Figura 1.** Estructura química de antocianidinas (Fernández & Lizana, 2020)

### 2.1.1 Biosíntesis de las antocianinas

Las antocianinas se sintetizan a partir de tres moléculas de malonil CoA derivadas del metabolismo de ácidos grasos (precursores del anillo A) y una p-cumaroil CoA sintetizada a partir de fenilalanina a través de la vía general de los fenilpropanoides. El malonil CoA y la p-cumaronil CoA se condensan mediante la chalcona sintasa (CHS), la primera enzima comprometida en la biosíntesis de flavonoides. Para sintetizar la sustancia responsable del color se requiere la actividad de cuatro enzimas en la biosíntesis de flavonoides; chalcona isomerasa (CHI), flavonona-3hidroxilada (F3H), dihidroflavonol 4-reductasa (DFR) y antocianina sintasa (ANS) (**Figura 2**); sin embargo, la mayoría de las plantas hidroxila aún más el anillo B con la acción enzimática de la enzima flavona 3' hidroxilasa (F3'H) que forma cianidina, o la enzima flavona 3'5' hidroxilasa (F3'5'H) que forma delphinidina. Las diferencias en la hidroxilación del anillo B confieren diferencias en la gama de colores de las antocianinas siendo la pelargonidina de naranja a rojo, cianidina de rojo a púrpura y delphinidina de rojo a azul, aunque depende además de muchos otros factores como el pH. La estructura de la antocianidina es intrínsecamente inestable y, en la naturaleza, estos pigmentos se acumulan exclusivamente como formas glicosadas (antocianinas) donde el carbono 3 se une a través del oxígeno a un residuo de carbohidrato. Posterior a la síntesis, la cianidina puede metilarse en su grupo 3' hidroxilo para formar peonidina o en sus grupos

3'5' hidroxilo para formar malvidina. Las más de 600 antocianinas identificadas difieren de sus cadenas laterales, que van afectando su funcionalidad (Zhang et al., 2014).



**Figura 2.** Vía principal para la biosíntesis de antocianinas (Zhang et al., 2014)

## **2.1.2 Coloración de antocianinas**

### **2.1.2.1 Glicosilación**

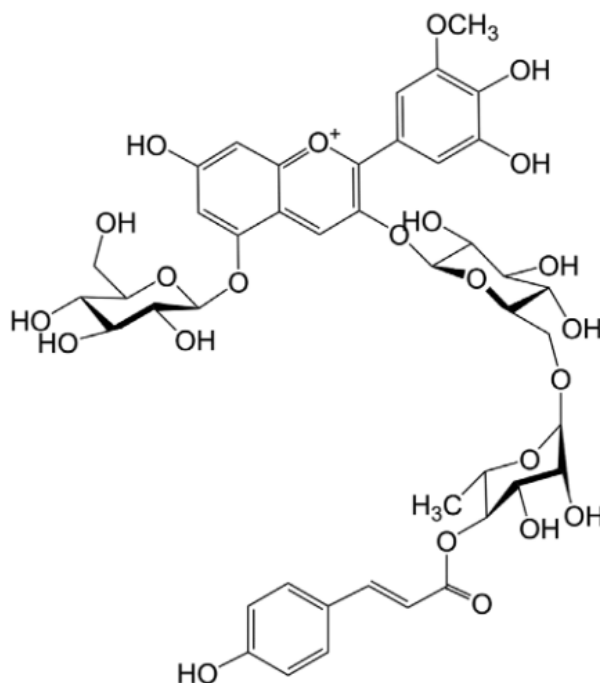
Esto se podría deberse al proceso de glicosilación que suelen ser catalizadas por glicosiltransferasas localizadas en el citoplasma, los glucósidos más comunes son glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa y xilosa; la glicosilación del C3 se produce en todas las antocianinas que se acumulan naturalmente y aumenta la estabilidad del pigmento (Mazza & Brouillard, 1987) ; a mayor glicosilación cambia el color ligeramente a rojo; los glucósidos más comunes en los 3-biósidos de las antocianinas son la rutinosa (glucosa más ramnosa), soforosa (glucosa más glucosa) y la sambubiosa (glucosa más xilosa) (de Ancos et al., 1999). Las enzimas que añaden los residuos de glucósidos en las diferentes posiciones pertenecen a distintos grupos de glicosiltransferasas de la familia 1. Los 3, 5 diglucósidos también son comunes y, aunque la glicosilación 3 mejora la estabilidad de las antocianinas en comparación con las antocianidinas agliconas, la glicosilación de la posición 5 puede reducir la estabilidad. A cualquier pH, las antocianinas 3-glucósido son las coloreadas que las 3.5 diglucósidos equivalentes porque la pérdida del grupo OH en la posición C5 acelera las reacciones de hidratación que conducen a la formación de pseudobase incoloras (Zhang et al., 2014); otros residuos que pueden glicosilarse son la posición 7 y las posiciones 3' y 5' del anillo B. Esta glicosilación adicional puede enriquecerse con grupos acilo, tanto aromáticos como alifáticos, que afectan el color y aumentan la estabilidad de los pigmentos. Algunas reacciones de glicosilación no utilizan glucósidos, si no que utilizan glucósidos de acilo como donantes, reacciones que se catalizan por enzimas que pertenecen a la familia 1 de la glucosa hidrolasa (Matsuba et al., 2010).

### **2.1.2.1 Acilación**

Así mismo las antocianinas podrían colorearse por procesos de acilación que a menudo es con ácidos aromáticos (p-cumárico, cafeico, ferúlico, sináptico, gálico o p-hidroxibenzoicos) o ácidos alifáticos (malónico, acético, málico, succínico, tartárico y oxálico); la acilación de las antocianinas aumenta su estabilidad, a través de procesos de copigmentación intramolecular e intermolecular; en algunos compuestos los grupos acilos se encuentran glicosilados; estas antocianinas más complejas tienen grupos glicosilo y acilo alternos, lo que

generalmente conduce a mayor estabilidad en solución; la acilación aromática además cambia el color de los pigmentos hacia el azul. La acilación suele ser catalizada por aciltransferasas utilizando donantes de acil CoA; a valores más altos de pH (6-6.5) se forman bases quinoidales de antocianina (coloración azul) que pueden estabilizarse mediante procesos de co-pigmentación intramolecular (D'Auria, 2006).

La acilación afecta además las propiedades químicas de la antocianina a medida que aumenta el tamaño estructural, la polaridad se ve afectada por el grupo acilo, la organización espacial cambia y disminuye la reactividad química (**Figura 3**) (Jokioja et al., 2021). Los colores que se pueden observar son morado debido a la petunidina, peonidina y malvidina metoxisustituidas (Andersen & Jordheim, 2010c; Fossen & Andersen, 2000) y el color rojo se lo otorga a la pelargonidina (Mori et al., 2010).



**Figura 3.** Estructura de antocianina acilada

### 2.1.3 Estabilidad de las antocianinas

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen en el tratamiento de DM2, su incorporación a matrices alimentarias por productos farmacéuticos es limitada debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y almacenamiento (Santos-Buelga & González-Paramás, 2019). Factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de



oxígeno, luz y ácido ascórbico; concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad de estos compuestos (Tarone et al., 2020).

### **2.1.3.1 La influencia del pH**

Debido a la naturaleza iónica de la estructura molecular, el color de las antocianinas está influenciado por el pH, siendo este el primer parámetro de evaluación. Como ya se sabe, las antocianinas se encuentran en cuatro formas químicas diferentes, que dependen del pH de la solución. Así, en un ambiente ácido (pH 1), las antocianinas se encuentran en forma de catión flavilio (color rojo) lo que las hace más solubles en agua (Khoo et al., 2017), y esta forma es responsable además de la producción de colores rojo y púrpura. Cuando el pH aumenta entre 2 y 4, la especie azul quinoidal se encuentra de forma abundante, mientras que a un pH de 5 y 6 aparece una pseudobase de carbinol y una chalcona, compuestos incoloros (Kang et al., 2021). Finalmente, a un pH superior a 7, las antocianinas se degradan según los grupos sustituyentes. Sin embargo, las cuatro formas de antocianinas pueden coexistir en un rango de pH de 4 a 6, y el catión flavilio mantiene el equilibrio de estas formas (Castañeda-Ovando et al., 2009; Pina et al., 2012). Como se mencionó anteriormente, los sustituyentes del anillo B y la presencia de grupos hidroxilo o metoxilo adicionales son responsables de la estabilidad de las antocianinas, que en ambientes neutros disminuyen la estabilidad de la aglicona. Por otro lado, aunque en un ambiente neutral, las agliconas no son estables, los derivados de monoglucósidos y diglucósidos son más estables en estas condiciones, porque la molécula de azúcar evita la degradación de intermediarios inestables en la molécula de fenol y ácido aldehído (Fleschhut et al., 2006; Weber & Larsen, 2017). En resumen, la estabilidad de las antocianinas aumenta al aumentar la metilación y disminuye al aumentar el número de grupos hidroxilo en el anillo B de las antocianinas. Al mismo tiempo, la acilación juega un papel importante en la mejora de la estabilidad de las antocianinas (Fei et al., 2021).

### **2.1.3.2 Efecto de co-pigmentación**

La co-pigmentación es un fenómeno específico de las antocianinas y no se puede observar en otras clases de polifenoles y otros compuestos no fenólicos (Kammerer, 2016). Este es un proceso por el cual los pigmentos forman asociaciones moleculares o complejos con otros compuestos orgánicos incoloros o iones metálicos, produciendo un cambio o aumento de intensidad del color (Boulton, 2001). Para que una molécula actúe como co-pigmento, debe

cumplir dos requisitos: poseer sistemas conjugados  $\pi$  lo suficientemente extendidos, que favorecen la interacción de apilamiento  $\pi$ - $\pi$ , y tener grupos donantes/aceptores de enlaces de hidrógeno, como OH y grupos C=O (Trouillas et al., 2016). Este fenómeno es dependiente del pH, ya que el incremento de este parámetro ocasionará la destrucción de antocianinas y, por lo tanto, una disminución en la intensidad del color de la solución (Jamei & Babaloo, 2017). Al mismo tiempo la estabilidad de los complejos copigmentados está influenciada por la degradación térmica. Por lo tanto, a altas temperaturas el mecanismo de co-pigmentación no tiene efectos visibles o incluso puede conducir a resultados opuestos. Además, la interacción entre las antocianinas y los copigmentos es diferente según su naturaleza y concentración, obteniéndose así diferentes tonalidades e intensidades de color (Maite T. Escribano-Bailon, 2012). Los co-pigmentos son incoloros en forma libre, pero cuando se mezclan con antocianinas hay una interacción, lo que da como resultado un efecto hiperacrómico y un cambio de desplazamiento batocrómico en los espectros de absorción, ya que las antocianinas libres de pigmentos absorben la luz a una cierta longitud de onda, y después de la co-pigmentación este valor aumenta significativamente. Como tal, el complejo de antocianina del copigmento tendrá una longitud de onda de absorción más larga (Andersen & Jordheim, 2010a; Molaeafard et al., 2021). La naturaleza de estos compuestos puede ser muy variada, por lo que los pigmentos pueden ser alcaloides, aminoácidos, nucleótidos, ácidos orgánicos, flavonoides, metales o incluso otras antocianinas (Castañeda-Ovando et al., 2009; Oliveira et al., 2021; Rodriguez-Amaya, 2019).

### **2.1.3.3 Temperatura**

Debido al procesamiento a altas temperaturas a las que pueden ser sometidos los alimentos para prolongar su vida útil, las antocianinas pueden sufrir multitud de mecanismos como la glicosilación, el ataque nucleofílico del agua, la escisión y polimerización que provocarán la pérdida de este pigmento y su degradación (Rodriguez-Amaya, 2019). Por tanto, la temperatura es otro factor que afecta a la estabilidad de la estructura molecular de las antocianinas, por lo que al aumentar la temperatura se produce la degradación de estos compuestos (G.H et al., 2006) y determina el pardeamiento de los productos en presencia de oxígeno (Riaz et al., 2016). Así, tanto la intensidad del color determinada por las antocianinas monoméricas como su cantidad disminuyen en función del tiempo/temperatura, mientras que

la cantidad de pigmentos marrones/fracción polimérica aumenta. Se ha comprobado que, en todos los pigmentos alimentarios, incluidas las antocianinas, la estabilidad disminuye al aumentar la temperatura. Al mismo tiempo, la investigación actual ha informado que la estabilidad de estos compuestos está estrechamente relacionada con su estructura química, donde la fracción de azúcar es un factor importante (Remini et al., 2018). Según un estudio realizado por Turker et al. (2004), las antocianinas almacenadas a diferentes temperaturas, en forma acilada, tienen una mayor estabilidad que las antocianinas no aciladas (Turker et al., 2004).

#### **2.1.3.4 Oxígeno**

Debido a la estructura química no saturada de las antocianinas, estos compuestos son susceptibles a reaccionar con el oxígeno molecular (Sikorski, 2018). Por otro lado, el oxígeno es otro factor importante que influye en la estabilidad de las antocianinas, teniendo un papel en su degradación de dos formas: por un mecanismo oxidativo directo o por acción de enzimas oxidante (Levy et al., 2019). La eliminación del oxígeno de la solución de antocianinas evita la degradación térmica; de hecho, a altas temperaturas en combinación con la presencia de oxígeno han demostrado ser la combinación más dañina de todos los factores que influyen en la estabilidad de los compuestos (Levy et al., 2019).

#### **2.1.3.5 Ácido ascórbico**

La presencia de ácido ascórbico en un ambiente que contiene antocianinas provoca su degradación y pérdida de color más rápida, lo que sugiere una interacción directa entre las dos moléculas (Farr & Giusti, 2018; Sikorski, 2018). Al mismo tiempo, la presencia de oxígeno en el ambiente favorecerá una degradación más rápida de las antocianinas por parte del ácido ascórbico, determinando así la formación del pigmento polimérico y el blanqueamiento del pigmento antociánico. El proceso específico aún se desconoce; sin embargo, la adición de ácido ascórbico a las antocianinas aumenta la velocidad de descomposición de ambas moléculas. Los presuntos mecanismos por los que ocurriría este fenómeno son la condensación directa del ácido ascórbico con antocianinas, o la formación de peróxido de hidrógeno y la escisión oxidativa del anillo de pirilo por peróxidos (Levy et al., 2019). La pérdida de pigmentos de antocianina por el segundo mecanismo, es decir, la escisión oxidativa del anillo de pirilo, se debe a la capacidad de las antocianinas para actuar

como activador del oxígeno molecular, siendo el resultado de esta reacción los radicales libres. Por otro lado, se cree que las moléculas electrófilas, como los bisulfitos, el peróxido de hidrógeno y el ácido ascórbico, se dirigen a los sitios nucleofílicos de las antocianinas. Se ha propuesto que el ácido ascórbico provoca una degradación recíproca e irreversible tanto del pigmento como de los micronutrientes. Este proceso es distinto del blanqueo bisulfitado, que es reversible y sensible al pH. Por lo tanto, este fenómeno es una barrera importante para el uso de colorantes a base de antocianinas en el sector alimentario, particularmente en jugos y bebidas que frecuentemente están fortificados con vitamina C (Farr & Giusti, 2018).

#### **2.1.3.6 Luz**

Las plantas están expuestas a la luz, por lo que estimula la síntesis y acumulación de antocianinas, por lo que la luz es un parámetro importante en la estabilidad de estos compuestos (Sikorski, 2018). Por un lado se requiere luz para la síntesis de antocianinas, pero al mismo tiempo puede ocasionar su degradación (Cavalcanti et al., 2011). En conjunto con la tasa de oxígeno molecular que afecta la degradación inducida por la luz; cuando los pigmentos se exponen a luz fluorescente intensifica la degradación (Remini et al., 2018). La presencia de luz en el almacenamiento de antocianinas afecta además la actividad antioxidante (Aramwit et al., 2010). Para minimizar el impacto negativo, se propone almacenar los extractos ricos en antocianinas en recipientes que puedan bloquear la luz del espectro visible al campo ultravioleta (Remini et al., 2018).

#### **2.1.3.7 Enzimas**

Las enzimas comunes que degradan las antocianinas son las glucosidasas, peroxidasas (fenol oxidasas) y fenolasas (polifenol oxidasas) (Riaz et al., 2016). Estas enzimas pueden ser producidas por las plantas o como efecto de la contaminación microbiana. Es importante mencionar que las glucosidasas afectan directamente a las antocianinas, mientras que las peroxidasas y fenolasas afectan su estabilidad (Marszałek et al., 2017). Por lo tanto, las glucosidasas rompen el enlace covalente entre el residuo de glucosilo y aglicona, formando antocianidinas inestables (Riaz et al., 2016). Se supone que la primera enzima que afecta la estabilidad de las antocianinas es la  $\beta$ -glucosidasa, que forma antocianidinas que pueden oxidarse aún más por la polifenol oxidasa y/o la peroxidasa (Marszałek et al., 2017). Tras la acción de estas enzimas, la solubilidad de las antocianinas disminuye y se produce su

transformación en compuestos incoloros, perdiendo así la intensidad de color de estos pigmentos (Sikorski, 2018).

#### **2.1.4 Mecanismos de acción en procesos metabólicos de HCO**

Los carbohidratos de la dieta como la sacarosa y el almidón, son fuentes principales de energía; en el metabolismo humano, diversas enzimas descomponen los carbohidratos dietéticos digeribles en monosacáridos, la glucosa absorbida eleva los niveles en sangre e induce a la secreción de insulina de las células  $\beta$  de Langerhans en el páncreas, cuando la homeostasis de la glucosa falla puede provocar complicaciones graves como trastornos metabólicos (Jokioja et al., 2021); la progresión de la resistencia a la insulina, intensifican los trastornos del metabolismo de los lípidos y el aumento de glucosa en sangre que promueven la inflamación y el estrés oxidativo, lo que finalmente conduce a la progresión de la DM2 y la aparición de diversas complicaciones. Las antocianinas mejoran estas condiciones a través de varios mecanismos para evitar que la prediabetes progrese a DM (Yang et al., 2021)

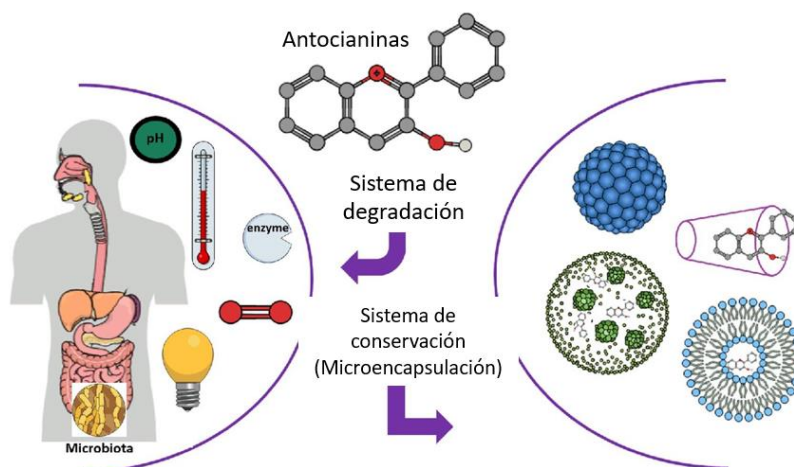
En primer lugar, mejora la resistencia a la insulina, al reducir la fosforilación de residuos receptores (Daveri et al., 2018; Yan et al., 2016); e indican la adiponectina (Li et al., 2015; Matsukawa et al., 2015; Nemes et al., 2019; Yan et al., 2016; Yang et al., 2020). Inhiben la actividad de la  $\alpha$ -amilasa que está presente en la luz del intestino delgado para mejorar la hiperglucemia posprandial (Alnajjar et al., 2020; Yamane et al., 2016). A través de los transportadores de glucosa 2 (GLUT2) y sodio /glucosa transportador - 1 (SGLT1), la glucosa se puede absorber desde el intestino delgado hacia los vasos sanguíneos, lo que provoca hiperglucemia posprandial (Williamson 2013). Algunos estudios han confirmado que las antocianinas pueden inhibir los transportadores de glucosa (SGLT1 y GLUT2) para reducir la absorción de glucosa en el intestino, mejorando la glucemia posprandial (Herrera-Balandrano et al., 2021; Jiang et al., 2020).

Pueden mejorar estrés oxidativo: el daño celular inducido por el estrés oxidativo juega un papel importante en la progresión de la DM2, por lo que la capacidad antioxidante de las antocianinas también es una de las razones del efecto anti-DM2. Las antocianinas eliminan

el exceso de radicales libres y reducen el daño causado por el estrés oxidativo al activar los sistemas de defensa antioxidantes endógenos (Li et al., 2015). Los estudios han demostrado consistentemente que las antocianinas mejoran la actividad de los antioxidantes enzimáticos en el cuerpo, como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT), mejoran su capacidad para proteger las células del daño oxidativo al catalizar la conversión de radicales libres en peróxido de hidrógeno (Nemes et al., 2019).

## 2.2 Microencapsulación de antocianinas

A pesar de los beneficios estudiados con la ingesta de antocianinas y extractos ricos en estos compuestos, su incorporación en sistemas alimentarios aún enfrenta obstáculos tecnológicos en la industria alimentaria, ya que estas moléculas son muy inestables y susceptibles a degradarse como se mencionó en el apartado anterior, lo que resulta en una muy baja biodisponibilidad y pérdida de color durante el procesamiento y almacenamiento (Corrêa-Filho et al., 2019; García-Tejeda et al., 2015; Tarone et al., 2020). La microencapsulación es una opción prometedora en cuanto a la protección frente a condiciones ambientales adversas y, al mismo tiempo, proporciona estabilidad física, liberación controlada, bioaccesibilidad mejorada y facilidad de manipulación y almacenamiento. En la **Figura 4**, se muestra el esquema de degradación de las antocianinas y como pueden ser incorporadas a sistemas de microencapsulación.



**Figura 4.** Microencapsulación de antocianinas (Tarone Cazarón et al., 2020)

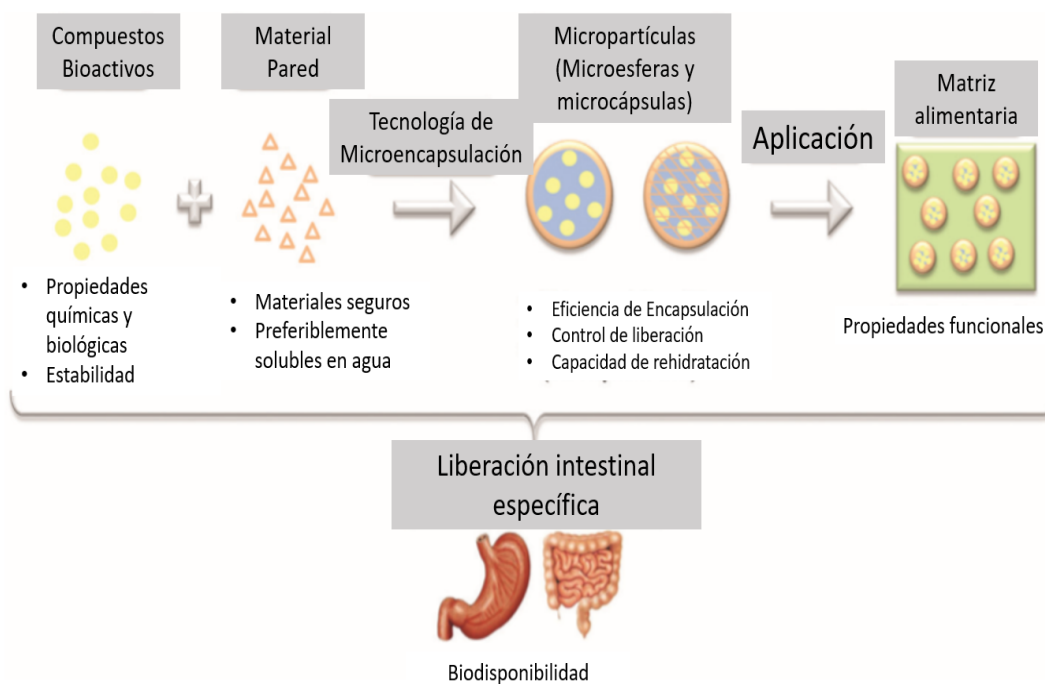
El concepto de microencapsulación fue desarrollado principalmente por el sector industrial farmacéutico, cuyo objetivo es controlar y/o modificar la liberación de sustancias. En gran cantidad de informes e investigaciones ha incrementado el interés en esta técnica con respecto a la incorporación de extractos bioactivos con fines de mejorar aspectos de salud de la población. La encapsulación ofrece una posibilidad prometedora para estabilizar compuestos bioactivos y controlar su liberación. Aunque existen técnicas eficientes y emergentes, la microencapsulación sigue siendo un desafío en la industria alimentaria (Tarone et al., 2020). En el proceso de microencapsulación, se forma una estructura multicomponente que es capaz de retener sustancias sólidas, líquidas o gaseosas como material central activo en un polímero como material pared o de soporte (Mohammadinejad & Kurek, 2021). Los productos obtenidos mediante este proceso son de diferentes tamaños desde 1 a 1000  $\mu\text{m}$ . Las morfologías generadas a través de la microencapsulación también son diversas, incluidas microesferas, microcápsulas y micropartículas (**Figura 6**). En las microesferas, el material núcleo está disperso en la matriz y en la superficie, a diferencia de las microcápsulas. Las microcápsulas pueden ser mononucleares o polinucleares, en el primero, un solo compuesto activo está recubierto, mientras que el segundo consta de dos o más núcleos. El material pared con el que se recubre el ingrediente activo puede ser de una o varias capas. En cuanto a las micropartículas, pueden tener una forma irregular. La formación específica de estas estructuras depende de la elección de los materiales del núcleo y de la pared, así como de las tecnologías de proceso elegidas para su producción (Fang y Bhandari, 2010). La **Figura 6** muestra la cadena lógica, a partir de la elección de bioactivos, materiales y el proceso de microencapsulación hasta el final de los puntos cruciales en cada etapa (Dias et al., 2015)

Hasta ahora, se han investigado con éxito múltiples estrategias para la microencapsulación de antocianinas (**Tabla 7**), donde los métodos más empleados son: 1) métodos físicos, como secado por aspersión, liofilización (secado por congelación) y electropulverización; 2) los métodos químicos, como la formación de complejos de inclusión; y 3) métodos fisicoquímicos, como liposomas, emulsificación, coacervación y gelificación iónica (Tyagi et al., 2011).

En general, las características e interacción entre material núcleo y material pared, el tamaño de partícula esperado, las propiedades de liberación, escalabilidad industrial y el costo de proceso son factores que contribuyen a la selección adecuada de la técnica. Se ha utilizado una amplia gama de biopolímeros, como proteínas, polisacáridos y lípidos, como materiales pared de las antocianinas, independientemente de la técnica (Mahdavi et al., 2014).



**Figura 5.** Esquema de varias morfologías de microencapsulación. A) microesfera, b) microcápsula monocapa mononuclear, C) microcápsula multicapa mononuclear, C) microcápsula multicapa multinúcleo E) micropartícula



**Figura 6.** Cadena lógica de encapsulación (Días, et al, 2015)



**Tabla 1.** Descripción general de las ventajas, desventajas y parámetros de variables de métodos de microencapsulación de antocianinas

<b>Método</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>	<b>Parámetros</b>	<b>Referencia</b>
<b>Físicos</b>				
Secado por aspersión	Rápido, versátil, rentable, alta EE, retención, estabilidad de almacenamiento	Partículas no uniformes, degradación y pérdida de producto	Parámetros operativos: Flujo de alimentación, temperatura de entrada y salida de aire. Propiedades de material: tipo, concentración, viscosidad (material pared), relación material núcleo y pared	(Drosou et al., 2017)
Liofilización	Utiliza bajas temperaturas	Largo tiempo de procesamiento y alto costo y energía. Baja estabilidad y sensibilidad de oxidación	Tiempo y presión de secado	(Fang & Bhandari, 2012)
Electropulverización	Método rentable de un solo paso, adecuado para compuestos sensibles al	Lento, requiere mucho tiempo y produce un bajo rendimiento de	Parámetros operativos: caudal, potencial eléctrico aplicado, distancia entre	(Rostami et al., 2019)

---

calor, produce partículas con alta relación superficie-volumen, liberación controlada, funcionalidad mejorada

encapsulación, difícilmente repetible

punta de boquilla y recolector

Propiedades intrínsecas: tensión superficial, viscosidad, concentración, peso molecular del polímero, conductividad eléctrica

Condiciones ambientales: humedad y temperatura

### Químicos

Complejos de inclusión

de Preserva las antocianinas de las reacciones de polimerización, oxidación y degradación. Proporciona estabilidad térmica y propiedades de liberación controlada.

La baja solubilidad de  $\beta$ -CD en agua conduce a la precipitación o a una solución viscosa en altas concentraciones.

Temperatura de inclusión, estructura y polaridad de las moléculas huésped y la cavidad del huésped

(Mohammadinejad & Kurek, 2021)

### Fisicoquímicos

---

Emulsiones Pickering	de Respetuoso con el medio ambiente y no necesita tensioactivos. Mayor estabilidad de coalescencia, fuerte protección, estabilidad de almacenamiento y liberación personalizada.	Industrialización	Humedad de partícula. La fase oleosa y la relación entre fases. Concentración de partículas y cobertura superficial. Carga de partículas, concentración de sales y pH, Método de preparación de emulsión y temperatura	(Albert et al., 2019)
Liposomas	Mayor adsorción y biodisponibilidad. No tóxico y no inmunogénico.	Baja EE. Oxidación de lípidos, mala estabilidad fisicoquímica y amplia distribución de tamaño de partículas. Se requiere un paso de posprocesamiento.	Fuente y concentración de fosfolípidos. pH, buffer	(Sharif et al., 2020)
Gelificación iónica	Bajo costo y no requiere equipo especializado, altas temperaturas y solventes orgánicos	Liberación rápida cuando se encapsulan materiales hidrofílicos o de bajo peso molecular.	Concentración de la solución de polielectrolito y material de pared. Tiempo de reacción y agitación.	(de Moura et al., 2019)

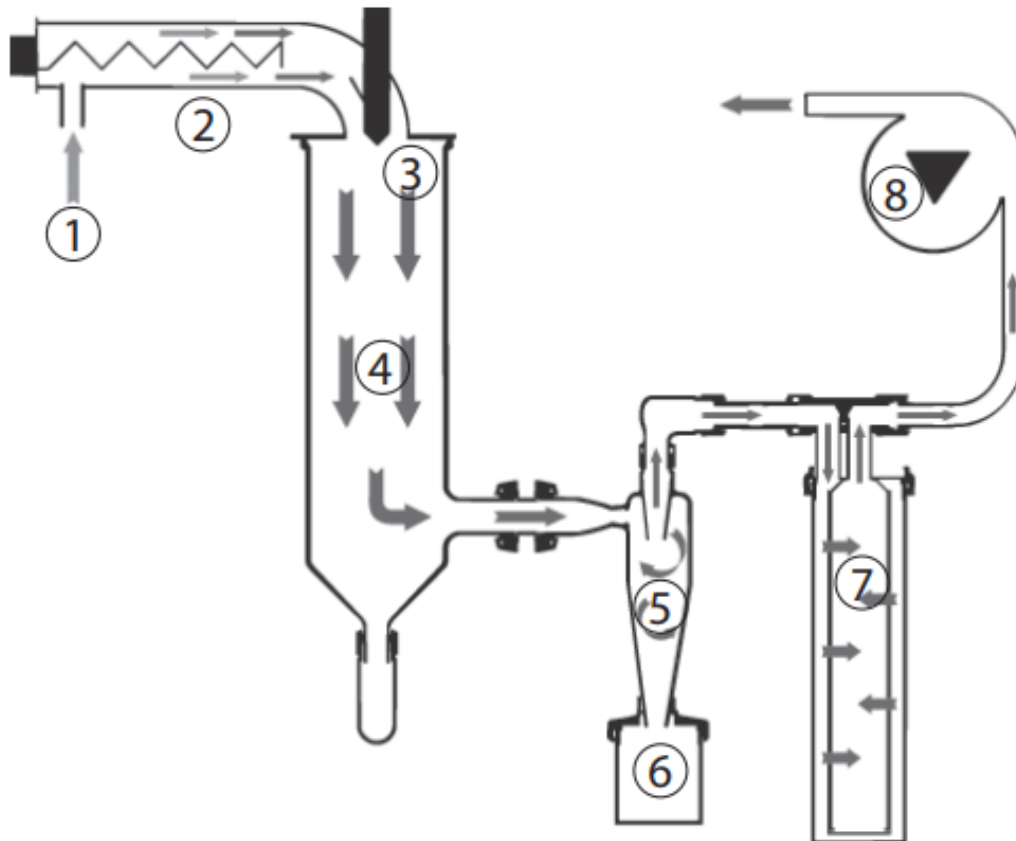
---

			Relación material núcleo- pared.
Coacervación	Alta capacidad de carga, requisitos de funcionamiento a baja temperatura, reducción de las pérdidas por evaporación de compuestos volátiles y degradación térmica. Liberación personalizada de compuestos activos.	Las partículas producidas son muy sensibles al pH y la fuerza iónica. Aglomeración de Control de partículas y tamaño de partículas. Complejidad del método.	Parámetros de procesamiento: método de preparación de la emulsión, temperatura del medio, pH y fuerza iónica, métodos de entrecruzamiento y secado. Propiedades del material: composición química, concentración, pesos moleculares de los polímeros y relación en peso.

---

### 2.2.1 Secado por aspersión

El secado por aspersión es uno de los métodos de microencapsulación más antiguos y comunes de la industria, alrededor del 80 al 90% de las antocianinas se han encapsulado con éxito a través de esta técnica (Samborska et al., 2021). Es una técnica de encapsulación relacionada con la atomización de un líquido en un polvo seco por medio de un inyector que incluye una corriente de gas de secado caliente (Rattes & Oliveira, 2007) (**Figura 7**). Consta de tres etapas: 1. Homogenización del líquido de alimentación por un atomizador 2. Secado de la solución de alimentación por un portador de gas caliente para lograr la evaporación del solvente. 3. Recolección de partículas secas por un filtro (Schafroth et al., 2012). Esta técnica se caracteriza por ser rápida, versátil, rentable, fácil de escalar a nivel industrial; específicamente es capaz de tener una alta retención y estabilidad de antocianinas (Mohammadalinejhad & Kurek, 2021).



**Figura 7.** Diagrama del funcionamiento del secador por aspersión (BUCHI B-290, 2019)

Las propiedades del microencapsulado dependen de los parámetros de la técnica: flujo de la solución de alimentación, temperatura de entrada de aire y el tipo, concentración y viscosidad del material pared (Janiszewska-Turak, 2017). La capacidad de carga de las microcápsulas se estima utilizando la eficiencia de encapsulación (EE). La temperatura es el principal factor que puede afectar la EE; hay una correlación entre las altas temperaturas de secado y la disminución de la adherencia del polvo en la cámara de secado, lo que resulta en el incremento de la EE. Las altas temperaturas facilitan, además, la velocidad de secado y la formación de una cobertura, restringiendo la difusión de calor en la gota y lixiviación de antocianinas (Das et al., 2019). Sousa et al. (2015) concluyeron que las altas temperaturas del aire, combinadas con una alta concentración de sólidos en la solución, dan como resultado una alta EE y conserva mejor las características estructurales de las antocianinas. En el estudio de Laokuldilok et al. (2015), las antocianinas fueron encapsuladas a diferentes temperaturas de entrada de aire (140, 140 y 160 °C), observaron que a medida que aumentaba la temperatura de entrada de aire, la EE aumentó aproximadamente 64% a 140 °C hasta 82% a 180 °C; sin embargo, disminuyó el contenido total, superficial y actividad antioxidante de las antocianinas; eso quiere decir que a pesar de los beneficios que otorgan las elevadas temperaturas durante el secado, este podría perjudicar la actividad biológica de las antocianinas.

Tanto la temperatura de entrada como de salida están relacionadas con el mantenimiento de la estructura de las antocianinas, debido a su sensibilidad a la temperatura (Đorđević et al., 2015). Una temperatura de entrada elevada expone las partículas a una temperatura de salida mayor. En contraste, las temperaturas de salida reducidas prolongan el tiempo de secado, creando un efecto combinado de temperatura y tiempo que impacta directamente en la pérdida de las antocianinas (Righi da Rosa et al., 2019).

La EE de las antocianinas obtenidas mediante secado por aspersión puede verse afectada por la relación de la concentración del compuesto y el material pared. Diversos estudios han adoptado una relación núcleo-pared alrededor del 25% para obtener una EE mayor (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Fang et al., 2020; Pieczykolan & Kurek, 2019). En cambio, Ortiz-Basurto (2017), informaron que la relación núcleo-pared con una relación 1:6 dio como resultado una mayor EE (52 a 60%) en comparación con la relación 1:4 (25 a 43%) y 1:5 (35

a 52%); este hallazgo podría estar asociado con mayores proporciones de material pared-núcleo, reduce la difusión de las partículas de antocianinas a través del material pared, ocasionando fugas durante el proceso de secado (Drosou et al., 2017). Se ha demostrado que a medida que aumenta la concentración de sólidos, aumenta la viscosidad del material pared, este fenómeno influye en el proceso de atomización y ocasiona la producción de partículas grandes y alargadas, afectando la velocidad de secado (Gharsallaoui et al., 2007). Además, las altas temperatura de entrada de aire, favorece la formación de grietas en la superficie facilitando la difusión de antocianinas desde el núcleo a la pared (Das et al., 2019).

La elección del material pared es de suma importancia para obtener un sistema con una buena EE; este material debe cumplir con los siguientes criterios: solubilidad aceptable, baja viscosidad a altas concentraciones, propiedades emulsionantes y capacidad de formación de películas (Gharsallaoui et al., 2007). Los materiales pared que cumplen estos requisitos y, por lo tanto, son adecuados para la microencapsulación mediante secado por aspersión incluyen: a) Polisacáridos: almidón, quitosano, pectina, gomas naturales, mucílagos, celulosa y derivados, y b) Proteínas de origen animal y vegetal: proteína de suero, caseinato, gelatina y proteína de soya.

Generalmente, los polisacáridos son más afines a la microencapsulación de antocianinas que las proteínas; debido a la que los polisacáridos presentan una alta capacidad de retención, baja viscosidad, excelente solubilidad y propiedades emulsionantes (Sharif et al., 2020). Como el almidón que gracias a su estructura química, espesor, el tamaño de poros e integridad de la superficie, permiten tener un microencapsulado con propiedades suficientes de retención, estabilidad y control de liberación que requieren las antocianinas (I Ré, 1998).

### **2.2.2 Material pared: Almidón nativo**

El almidón es un biopolímero renovable ampliamente distribuido en la naturaleza con una gran diversidad de aplicaciones industriales, y es una buena opción como material pared de compuestos bioactivos. Representan la reserva de energía de la naturaleza; los gránulos de almidón pueden aislarse de diversas fuentes botánicas como raíces, tubérculos, tallos, hojas, semillas, frutos y polen. Se presentan en diversas formas: esferas, elipsoides, polígonos, plaquetas y túbulos irregulares; con dimensiones de 0.5 a 175 nm. Su uso se basa en su alta

disponibilidad, bajo costo, funciones de retención de agua, alta o baja viscosidad y la posibilidad de modificación (mediante métodos físicos, químicos o enzimáticos) para mejorar o cambiar su funcionalidad y producir sistemas con mayor rendimiento. (Rezvankhah et al., 2020).

La estructura casi cristalina de los gránulos de almidón nativo hace que sean insolubles en agua en condiciones normales de temperatura y les aporta resistencia relativa a las carbohidrasas (que no son  $\alpha$ -amilasa y glucoamilasa), a menos que los gránulos se hinchen. La microencapsulación con almidón nativo generalmente se realiza mediante secado por aspersión, donde la solución se alimenta a un secador junto con la dispersión del almidón; con este método, la estructura granular permanece casi intacta (Gonzalez-Soto et al., 2011).

Las características que deben tomarse en cuenta en un sistema de microencapsulación a base de almidón nativo son: el tamaño, el área de superficie específica, el patrón de cristalinidad, la relación amilosa-amilopectina, así como el peso molecular (Wronkowska et al., 2008).

En primer lugar, referente al tamaño de gránulo, Zhao & Whistler (1994) reportaron que hay correlación entre la mejor estructura y formación de agregados esféricos, con un menor tamaño de gránulo de almidón para microencapsular ciertos saborizantes. En relación con el peso molecular, Tari et al. (2003), concluyeron que la estabilidad del microencapsulado de vainillina presentó una correlación con almidones de alto peso molecular, coincidiendo que fueron los gránulos de menor tamaño.

Se ha sugerido que la relación de amilosa-amilopectina 25:75 se asocia con la alta eficiencia de encapsulación, con un contenido menor al 20% de agua, mayor estabilidad y una velocidad de liberación más rápida (Magallanes-Cruz et al., 2017; Schirmer et al., 2013); el mayor contenido de amilopectina ofrece mayor capacidad de retención y mejor protección, efecto atribuible a la estructura ramificada de amilopectina. En contraste a ello un mayor contenido de amilosa puede ser ventajoso para la microencapsulación de compuestos de ácidos grasos, debido a la capacidad de formar complejos con moléculas pequeñas ya que las hélices de amilosa tienen una superficie exterior hidrófila y un canal helicoidal hidrófobo donde se pueden acomodar los materiales (Du et al., 2014). Aunque los sistemas con mayor concentración de amilosa presentan un comportamiento de liberación inaceptablemente lenta, (Keatkrai et al., 2017; Tari & Singhal, 2002; Wing et al., 1988).



En relación al patrón de cristalinidad, el almidón con morfología tipo B ha reportado capacidad para retener material en la disposición semicristalina del gránulo (Johnson & Mauer, 2019). La formación de la complejación en esta disposición elimina la posibilidad de reconocimiento enzimático, disminuyendo así la digestibilidad e incrementando el contenido de almidón resistente (Janaswamy, 2014).

Por último, además de tomar en cuenta las características estructurales y morfológicas del almidón nativo como opción para microencapsular un compuesto tan susceptible al daño como las antocianinas, es importante tomar en cuenta las condiciones del proceso de secado para obtener la mayor EE, estabilidad y características fisicoquímicas; es importante evitar el proceso a altas temperaturas de entrada de aire; debido a que el calor es una condición inadecuada para la encapsulación; ya que altera la disposición interna de los gránulos, reduce la capacidad de retención del material del núcleo debido a que los gránulos están parcialmente gelatinizados, ocasionando la filtración de amilosa en redes y limitando la capacidad de liberación (Fredriksson et al., 1998).

### **2.3 Almidón de malanga**

La malanga (*Colocasia esculenta*) es un cultivo de raíces de hierbas perennes monocotiledóneas que pertenece a la familia Arum o Areceae (Singla et al., 2020). Se conocen 100 géneros y 1500 especies en el mundo, pero las regiones tropicales y subtropicales como *Alocasia macrorrhiza* (taro gigante), *Cyrtosperma merkusil* (taro gigante de pantano), *Xanthosoma sigittifolium* (cocoyam) y *Colocasia esculenta* (taro) se caracterizan por su alto contenido energético y de carbohidratos (Kaushal et al., 2015; Zhu, 2016).

Se considera el quinto cultivo de raíz más extenso del mundo debido a sus valores multipropósito en aspectos alimentarios y medicinales (Miyasaka et al., 2019). Es un ingrediente activo de varios alimentos y de aplicaciones farmacéuticos, por lo que justifica su idoneidad comercial. En el mundo se cultivan 10.6 millones de toneladas de taro en aproximadamente 1.6 millones de hectáreas con una productividad promedio de 6.4 toneladas por hectárea (FAO, 2018). Es uno de los principales cultivos en regiones tropicales y subtropicales del mundo, incluyendo África, Asia, América Central, América del Sur y el Caribe y las islas de Polinesia; en México (Rodríguez-Miranda et al., 2011). El mercado

mundial de almidón nativo alcanzó un volumen de 88.2 millones de toneladas en 2018 y se espera que alcance los 98.2 millones de toneladas para el 2024 (IMARC, 2019). Entre los diferentes almidones de tubérculos y raíces, los aroides tienen funciones únicas, lo que sugiere que el taro tiene potencial como fuente alternativa de almidón.

### **2.3.1 Características**

Los cormos de taro son ricos en almidón, que puede representar más del 85% de la materia seca total (Agama-Acevedo et al., 2011; Lebot et al., 2011). En comparación con otras raíces tropicales como la batata, el almidón de taro tiene un alto contenido de cenizas (0.85%), proteína (5.6%) y fósforo (0.40%), pero un bajo contenido de lípidos (0.283%) (3). El bajo contenido de amilosa, su alta capacidad de hinchamiento, su buena estabilidad de retención de agua y aceite y otras características funcionales en el almidón de taro lo convierten en una opción exitosa con una gran perspectiva para su uso en el sector de procesamiento de alimentos. Su pequeño tamaño granular (1-5  $\mu\text{m}$  de diámetro) con mayor digestibilidad sugiere su viabilidad avanzada en el diseño de alimentos funcionales (Sukhija et al., 2016; Xiaoxuan Wang et al., 2018). Hoy en día, está incrementando el interés de diversas aplicaciones alimentarias y no alimentarias de los almidones que se atribuyen a su bajo costo, fácil disponibilidad, biodegradabilidad y comportamiento neutral (Singla et al., 2020).

El estudio metódico evidenció el contenido de almidón del 56 a 85% (base seca) de 315 genotipos de *Colocasia esculenta* lo que demuestra que es una fuente rica de almidón (Lebot et al., 2011). Hoyos-Leyva et al. (2018) informó un nivel del 83% de almidón aislado (base seca) con una pureza del 75 al 95%. Existen estrategias enzimáticas y convencionales para el aislamiento de almidón de cormos, lo que afecta su rendimiento y propiedades funcionales (Sit, Deka, et al., 2014; Sit, Misra, et al., 2014). El rendimiento máximo obtenido por métodos convencionales como el húmedo, centrifugación es del 7 al 18.6% (base húmeda) dependiendo de la fuente botánica, factores genéticos, variedad, etapa de cosecha, tamaño granular y método de aislamiento (Falade & Okafor, 2013). El rendimiento de la *Colocasia esculenta* fue del 10 al 18.6% en base húmeda.

El tubérculo de malanga está compuesto por una cantidad de macro y microconstituyentes como vitaminas, proteínas, lípidos y minerales (Ahmed & Khan, 2013; Martins et al., 2020)

según la especie y la composición química. El contenido de amilosa, proteínas, lípidos, cenizas y fósforo varía de 13 al 29 % almidón, 65 a 83% de humedad y del 2 a 3 % de otros compuestos menores como vitaminas y minerales (Karmakar et al., 2014); el almidón de taro se considera un cultivo con alto contenido de almidón en comparación con la papa, la batata, mandioca; aunado a su 96.6% de pureza (Hazarika & Sit, 2016).

### **2.3.2 Contenido de amilosa y amilopectina**

La proporción de amilosa es el factor determinante de los atributos de calidad de almidón de taro. Investigaciones han revelado que la amilosa en el almidón nativo (17.1%) es casi similar al almidón de yuca, pero menor que el almidón nativo de papa (26.4%) y el de frijol (35.6%). El contenido de amilosa que 315 genotipos de almidón de taro está en el rango de 10 a 49% mediante el uso de una combinación de colorimetría de unión de yodo y espectroscopía (Lebot et al., 2009; Lebot et al., 2011). Hazarika y Sit (2016) informaron que la amilosa extraída de taro nativo (21.65%) fue mayor que la del modificado (17%) debido a la liberación de amilosa durante las horas de modificación. El tratamiento de microondas favorece el aumento de amilosa del 13 al 20%, en el que la red de almidón altamente energizada rompe las cadenas complejas de amilopectina a cadenas de amilosa lineal; mientras que la modificación dual por microondas y otros tratamientos térmicos funcionan de manera opuesta y reducen la proporción de amilosa a partir de la reasociación en las cadenas de amilopectina de las cadenas de amilosa lineales (Deka & Sit, 2016).

El almidón nativo existe como componente D-glucosa, es decir, la amilosa y la amilopectina se unen a través de enlaces inter-intramoleculares hidrofóbicos por puentes de hidrógeno. Estas interacciones duales de masa polimerizada las convierten en partículas insolubles en agua (Santana & Meireles, 2014). El almidón de taro se compone de 4/5 (80%) y 1/5 (20%) de amilopectina y amilosa, respectivamente; la amilopectina compuesta por 22 unidades de glucosa por molécula, mientras que la amilosa consta de 490 unidades de glucosa por molécula (Kaushal et al., 2015). Esta relación altera enormemente las propiedades funcionales del almidón. Usando SEC-HPLC (Cromatografía por exclusión de tamaño), la determinación del peso molecular de la amilopectina de 7 variedades de taro se basa en

rangos significativos ( $3$  a  $3.5 \times 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ ) que se encuentra por debajo del almidón de yuca. El índice de polidispersión ( $\sim 1.2$ ) del almidón de taro es casi similar al de la yuca, mientras que el peso molecular de la amilopectina de 7 genotipos de *C. esculenta* tiene de  $1.5$  a  $1.6 \times 10^6 \text{ g mol}^{-1}$ , más alto que el de yuca con un índice de dispersión similar (Mweta et al., 2010). Los almidones aroides tienen un peso loar promedio de amilosa ( $2.5 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$ ) y amilopectina ( $5.7$  a  $13 \times 10^8 \text{ g mol}^{-1}$ ). Lo que determina su mayor digestibilidad y funcionalidad (Hoyos-Leyva et al., 2017). Estructuralmente, la cristalinidad entre las fracciones de amilopectina unidas a través de enlaces de doble hélice es de tipo A que poseen los almidones de cereales, los almidones de leguminosas exhiben tipo B y el tipo C que se observa en las leguminosas (Dutta et al., 2015). El cromatograma de curva bimodal de permeación de la amilopectina del almidón de taro señala que el porcentaje alto de amilopectina se relaciona con las cadenas A, mientras que se encontró que las cadenas B tenían un porcentaje bajo. Por lo tanto, esta característica también fue descubierta por el almidón de taro para mostrar un patrón de cristalinidad tipo A (Hoyos-Leyva et al., 2017).

Un análisis en profundidad de la disposición molecular de la amilosa y la amilopectina destaca sus variaciones regionales que son de suma importancia para revelar una mejor comprensión de sus reformas de aplicación.

### **2.3.3 Morfología**

El estudio por microscopía óptica y electrónica de barrido se consideran técnicas analíticas para el almidón. Los estudios con MEB brinda detalles de las variaciones en curso durante y después de horas de procesamiento de partículas de almidón. Las partículas de almidón de taro se encuentran en un catálogo de formas y tamaños amplio dependiendo de los tratamientos a los que fueron sometidos (Singla et al., 2020). El patrón molecular de los gránulos de almidón revisados mediante cristalografía de rayos X; representan moléculas de amilopectina y amilosa con arreglos cristalinos y amorfos, respectivamente. Según la característica de difracción de rayos X, la mayoría de los cereales, tubérculos/raíces y almidones ricos en amilosa son de tipo A y B, respectivamente, mientras que el tipo C se encontró en la mayoría de las leguminosas y almidones de cereales cultivados en situaciones específicas. Según el polimorfismo granular el tipo A presenta picos únicos a  $15^\circ$  y  $13^\circ$ , un

pico binario a 17-18° y al menos a 20°, mientras que el tipo B posee un pico a 5.3° y 17° y un pico pequeño a 14°, 23° y 26° que es casi similar a los cereales (Zeng et al., 2014). Mukururubia et al. (2017) describió que el almidón de taro presentó el pico  $2\theta = 15^\circ$  y  $23^\circ$ . Doble pico en 17°-18°. En diversas investigaciones se ha demostrado que no hay modificación en las regiones cristalinas y amorfas debido a las modificaciones físicas o químicas del almidón de malanga.

#### **2.3.4 Características fisicoquímicas**

Los parámetros de calidad del almidón de taro están relacionados con la gelatinización, retrogradación, hinchamiento, solubilidad, pegajosidad, propiedades térmicas y de congelación-descongelación (Mukurumbira et al., 2017). El comportamiento variable en el poder de hinchamiento y el grado de solubilidad en los almidones se debe a las variaciones en las interacciones entre las moléculas de agua y almidón con el calentamiento por pérdida de birrefringencia que eleva simultáneamente el índice de hinchamiento del almidón (Madruga et al., 2014). El hinchamiento en los almidones generalmente viaja de la región amorfa al área cristalina y termina ahí. En consecuencia, la solubilidad está relacionada con el índice de hinchamiento debido a la lixiviación de la amilosa extraída que se separa y dispersa (Rafiq et al., 2015). Según Wang et al. (2018) el almidón de malanga exhibió un valor de 9.82 g/G de poder de hinchamiento y 18.33% para el índice de solubilidad que es bastante adaptable en comparación con otras fuentes de almidón. Falade y Okafer (2013) informaron que la propiedad de hinchamiento y solubilidad de *C. esculenta* tenía un valor más bajo que *X. sagittifolium*.

La gelatinización generalmente hace desaparecer la estructura cristalina de doble hélice de la amilopectina altamente ramificada, por lo que es una forma de impartir estabilidad en la fracción cristalina del almidón y se revela a través de su rango de entalpía (Xiaoxuan Wang et al., 2018). Wang et al. (2018) reportaron en un estudio comparativo sobre las propiedades de diversas fuentes de almidón como el de taro, yuca, arrurruz, ñame, frijol; que el almidón de malanga tenía una temperatura de gelatinización más alta que osciló de 77 °C y 92 °C y una entalpía comparable alrededor de 12.48 J/g en comparación con otros cultivos, lo que significa que este almidón tiene un mayor grado de estabilidad con defectos estructurales

mínimos (Sukhija et al., 2016). Otra investigación obtuvo resultados similares de entalpía (14-16 J/g) para almidón de taro; la *C. esculenta* ejemplificó una alta estabilidad de congelación-descongelación debido al contenido de amilosa y la relación de cadena unitaria de amilopectina (Srichuwong et al., 2012). Sit et (2014) mostró que los almidones de malanga tratados enzimáticamente y con ultrasonido tenían una mejor estabilidad de congelación-descongelación y menor sinéresis en comparación de almidón nativo; sin embargo, la combinación de ambos tratamientos redujo la estabilidad.

Las propiedades de pasta se emplean para determinar las respuestas del almidón que se somete a ciclos variables de calentamiento y enfriamiento que influyen en gran medida en su patrón estructural. La consideración de esta propiedad es la principal característica funcional del almidón, utilizado en los alimentos como agente espesante y aglutinante (Xiaoxuan Wang et al., 2018). Martín analizó el potencial de pegajosidad del almidón de taro obteniendo en su punto máximo (83.3 °C). Diversos estudios han informado que las propiedades de pasta y viscosidad reducidas pueden verse acetadas por la pérdida de amilosa y el contenido de lípidos (Andrade, 2017).

La capacidad de absorción de aceite es un medio para detectar la capacidad emulsionante de los almidones. Ertop et al. (2019) descubrió que el taro es un hidrocoloide adecuado debido a su óptima capacidad de absorción de agua y aceite; por lo tanto, puede actuar como un buen agente aglutinante. La variación entre la capacidad de absorción de aceite en el almidón de taro varió dentro del rango de 25% a 33% (Falade & Okafor, 2013). Hoyos-Leyva et al. (2018) encontró que la capacidad de absorción de aceite del almidón nativo era significativamente mayor que la del almidón poroso modificado producido por modificación enzimática.

Arinola (2019) evidenció que la variedad blanca del almidón de cocoyam obtuvo un valor significativamente mayor de absorción de aceite que la variedad roja (1,2 ml/g y 1.00 ml/g, respectivamente) debido a la diferencia en su densidad de residuos lipofílicos junto con la cadena hidrocarbonada de los lípidos. Esta capacidad de las variedades de cocoyam varió significativamente en valores de 21% a 36% dependiendo del grado de desintegración del almidón en su forma nativa (Falade & Okafor, 2013). La capacidad de absorción de agua de las variedades de almidón de taro fue considerablemente más baja que la del almidón de yuca

y similar al de almidón de maíz debido a la diferencia entre la estructura molecular de los gránulos de almidón (36). Himeda et al. (2012) reportaron que con el progreso de índice de madurez en el almidón también aumenta la capacidad de absorción de agua, Sin embargo, Arinola (2019) investigo que la capacidad de absorción de agua del almidón en su forma modificada fue mucho mayor.

### **2.3.5 Evidencia del almidón nativo de malanga como material pared**

La utilización de almidón de malanga como material pared ha resultado sumamente interesante debido a que la fracción y posiblemente la naturaleza de las proteínas conduce a la formación y estabilización de agregados esféricos. Hoyos-Leyva y colaboradores en 2018 informó que este almidón tiene la capacidad de formar agregados sin aditivos de origen proteico, de hecho, la malanga contiene un alto contenido de proteínas (5-7%) que es suficiente para unir granulados de almidón, dentro de una configuración esférica.

Zhao (1994) fue pionero en la utilización de almidón dentro de sistemas de microencapsulación, se propuso la utilización de gránulos pequeños de almidón como material pared de agregados esféricos como portadores de saborizantes; con la necesidad de incorporar agentes aglutinantes de origen proteico, polisacáridos e incluso gelatinas para poder incrementar la cohesión del material pared con el compuesto activo. Esta investigación sirvió de base para poder proponer un modelo de agregados esféricos a base de almidón para retener compuestos aromáticos, los almidones propuestos fueron almidones de gránulos pequeños: amaranto, quinua, arroz y malanga; la conclusión de la propuesta de este modelo fue que existe una correlación negativa de amilosa con el grado de retención del material pared con los compuestos aromáticos como la vainillina, aunado al origen del almidón, a las características morfológicas, estructurales y a la concentración del agente aglutinante (Tari et al., 2003).

Para el año 2007 se reportó la utilización de almidón de malanga modificado en la microencapsulación de aceite de naranja, como resultado se obtuvo una retención del 53% en almidón fosfatado y del 81% en almidón succinatado con una eficiencia del 96% (Debet & Gidley, 2007). En 2018 Hoyos-Leyva y colaboradores reportaron su utilización en forma nativa para la encapsulación de ácido ascórbico con base en los reportes del alto contenido

proteico de la malanga en estudios previos, con el fundamento de prescindir de agentes aglutinantes en almidones de gránulos pequeños; obtuvo un sistema con un tamaño promedio de 14.5  $\mu\text{m}$ , una retención total de 99% y una eficiencia del 20.9%, con baja energía de activación para interferir con otros alimentos durante la ingesta. La razón de la baja retención podría deberse a las altas temperaturas durante el proceso de secado que llegaron hasta los 170 °C, lo que modificó el patrón de cristalinidad del almidón y modifica la estructura del mismo (Hoyos-Leyva et al., 2018).

En el año 2019 se propone la microencapsulación de materiales hidrófobos como el aceite de almendra, el cual obtuvo una eficiencia de encapsulación total del 56%, que comparado con otros materiales a base de almidón modificado con proteína fue del 50 hasta el 55%. El sistema obtuvo además una eficiencia efectiva del 37.5% dentro de las cavidades internas y brindó una mayor protección oxidativa. (Hoyos-Leyva et al., 2019). En relación a la microencapsulación de compuestos bioactivos de origen microbiano (*Lactobacillus paracasei*), se comparó este material pared con almidón de arroz, lo que obtuvo fueron gránulos pequeños con una mejor formación de agregados esféricos y mayor retención en las cavidades internas (Alfaro-Galarza et al., 2020).

La caracterización de este almidón se ha centralizado en los procesos de secado por aspersion y el efecto de la adición de agentes aglutinantes a diferentes concentraciones, sin embargo, otras características como la temperatura de cristalización, la estabilidad bajo el agua y las condiciones de agitación siguen siendo poco exploradas. Estas características podrían proporcionar información para evaluar el potencial de los agregados de almidón de malanga para obtener un material de pared estable y que proporcione una mayor protección al núcleo.

De acuerdo con la investigación de Hoyos-Leyva et al. (2018) la estabilidad de agregados esféricos de malanga en agua en condiciones de agitación es baja, lo que indica que estas estructuras no serían adecuadas para encapsular biocompuestos destinado a la adición en líquidos (jugos, bebidas). Finalmente concluyeron que los agregados de malanga podrían usarse como material de pared, basándose en la temperatura de cristalización y el potencial electrocinético que pueden ser dos propiedades que explican la agregación de compuestos hidrosolubles (Hoyos-Leyva et al., 2018). Estas investigaciones sustentan como las características morfológicas y estructurales, le aportan las suficientes cualidades para formar



un sistema estable, con suficiente grado de cohesión y control de liberación de compuestos bioactivos.

## JUSTIFICACION

La DM2 y sus complicaciones representan un grave problema de salud pública, que va en incremento con 336 millones de personas diagnosticadas en 2019 y contribuyendo a la mortalidad de 5 millones de adultos en el 2015; México sigue la tendencia al incremento de la prevalencia con un total del 10.3%, mientras que en el estado de Hidalgo la prevalencia sobrepasa la media nacional con 12.8%. Específicamente de los casos diagnosticados más del 80% sigue algún tratamiento farmacológico; sin embargo, está bien documentado cómo el esquema tradicional para el tratamiento trae consigo las secuelas y efectos secundarios de la ingesta de fármacos; razón por la cual, se han incorporado nuevos tratamientos coadyuvantes como la ingesta de extractos y compuestos de origen natural con efecto antihiperglucemiante.

El efecto de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, específicamente de antocianinas, han demostrado beneficios en la acción de las células  $\beta$  en el páncreas; activación de transportadores y receptores de insulina en hígado, tejido muscular, tejido adiposo, así como en la inhibición de enzimas digestivas de hidratos de carbono; disminuyendo episodios de hiperglucemia desde las primeras hasta las últimas etapas de la enfermedad. Sin embargo, a pesar de sus efectos positivos, las antocianinas son sumamente vulnerables al daño, por lo que requiere un vehículo que permita mantener su actividad funcional, como lo es la técnica de microencapsulación mediante secado por aspersión, en dónde la elección del material pared es de gran importancia para poder obtener un sistema estable y con la suficiente bioaccesibilidad para mantener la actividad funcional necesario, es por ello que se propone utilizar almidón de malanga es su forma nativa, el cual presenta las características morfológicas, estructurales y fisicoquímicas adecuadas para la encapsulación de antocianinas, a través de la optimización del procedimiento con un diseño experimental compuesto rotatable que permite controlar y determinar el efecto de factores de control el proceso, para obtener el mejor encapsulado.

La información generada en el presente trabajo pretende presentar una alternativa para microencapsular antocianinas usando almidón de malanga, el cual permite una mayor protección, estabilidad y control de liberación a nivel intestinal.

## **OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo General**

Optimizar el proceso de encapsulación de antocianinas (extracto de papa morada) con almidón de malanga mediante el método de superficie de respuesta (MSR), con un diseño central compuesto rotatable (DCCR).

### **4.2 Objetivos específicos**

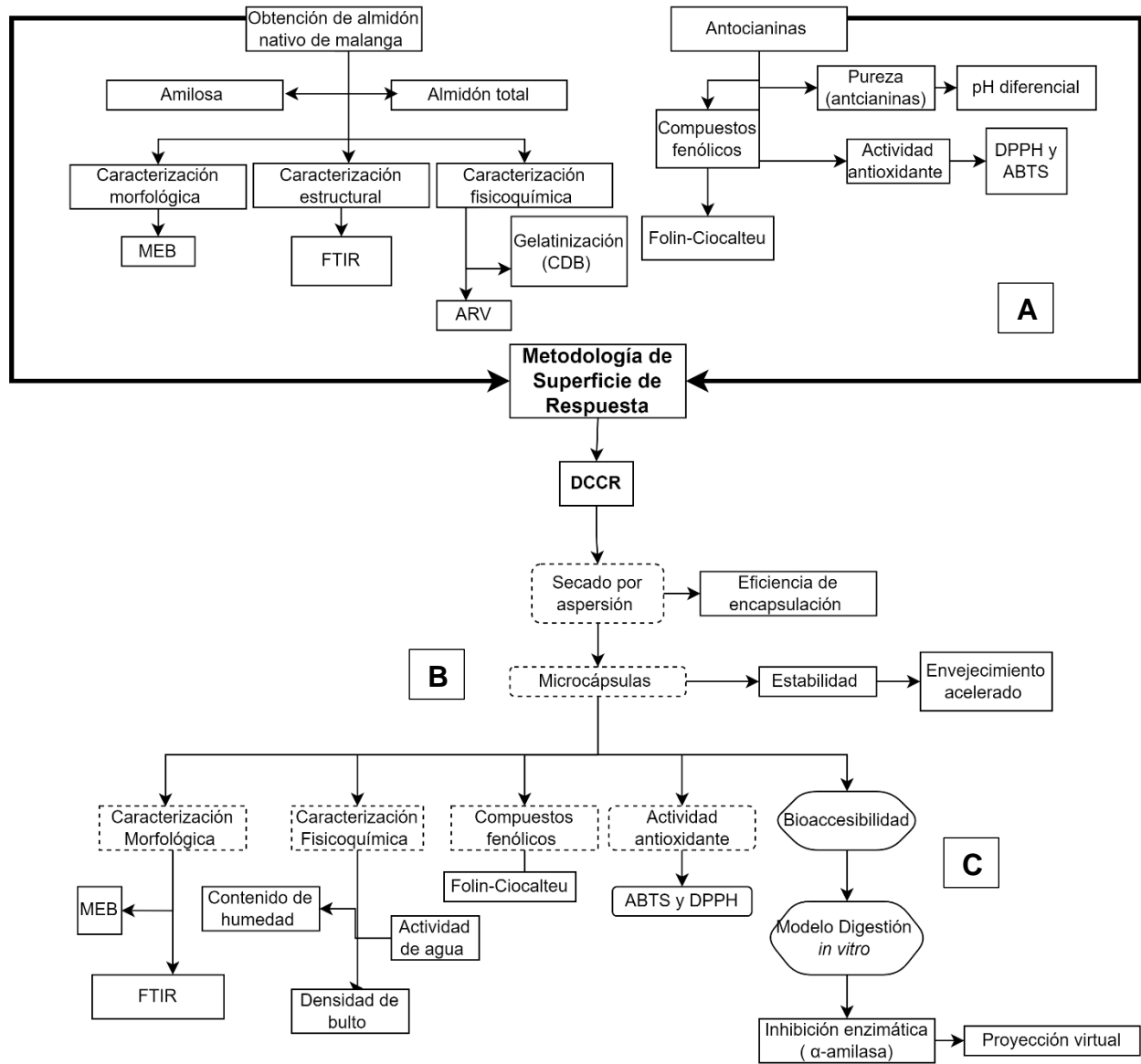
1. Aislar y caracterizar el almidón nativo de malanga.
2. Evaluar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del extracto de antocianinas de papa morada.
3. Optimización del proceso de microencapsulación de las antocianinas de papa morada, por medio del MSR, utilizando un DCR
4. Obtener el microencapsulado optimizado evaluando las mejores condiciones de secado por aspersión
5. Caracterizar morfológica y fisicoquímicamente el microencapsulado optimizado
6. Evaluar la bioaccesibilidad, inhibición enzimática del microencapsulado optimizado.
7. Proyección virtual de la funcionalidad del microencapsulado optimizado mediante un modelo *in silico*

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

La estrategia de trabajo se detalla en la **Figura 8** donde se puede observar que el estudio se divide en 3 partes comenzando por la obtención, caracterización del almidón y caracterización del extracto de antocianinas (**Figura 8A**); la segunda fase consiste en la encapsulación mediante de secado por aspersión, a través del proceso de optimización con un diseño de experimento compuesto rotatable incluye la caracterización morfológica, estructural, fisicoquímica, eficiencia de encapsulación, estabilidad (**Figura 8B**); finalmente, la tercera fase consiste en la evaluación de la bioaccesibilidad en un modelo *in vitro*, inhibición enzimática y proyección virtual en un modelo *in silico* (**Figura 8C**)

### **5.1 Materiales**

El almidón de malanga se adquirió de la región de Actopan, Veracruz, México. Las antocianinas se adquirieron de manera comercial bajo el pedido de la marca FARBE Naturals de México



**Figura 8.** Diagrama de planeación experimental

## **5.2 Aislamiento del almidón y evaluación de pureza (Fase I)**

### **5.2.1 Obtención del almidón**

Para la obtención del almidón se empleó la metodología propuesta por Flores-Gorosquera et al, (2004). El tubérculo fue lavado y pelado para eliminar la cáscara, se cortó en trozos de 5 a 6 cm<sup>3</sup>. Posteriormente se molió en licuadora tipo industrial (international, Mod.Li 12<sup>a</sup>, México), a velocidad baja durante 2 min. El homogenizado se tamizó consecutivamente en malla de 40 U.S (425 µm) y 100 U.S (250 µm) hasta que el agua del lavado fue clara. Posteriormente los sedimentos de la malla 100 se centrifugaron a 2800 rpm por 8 min. Los sólidos fueron secados en un horno (Luzeren, DHG9240A) a 40 °C por 24 h. Finalmente, el almidón obtenido se pasó a través de una malla No. 100 y se almacenó a temperatura ambiente para su posterior uso (Flores-Gorosquera et al., 2004)

### **5.2.2 Pureza del almidón**

Para evaluar la pureza del almidón, se calculó el contenido de almidón total mediante el procedimiento del kit Megazyme (Método amiloglucosidasa/  $\alpha$ -amilasa). Se pesaron aproximadamente 100 mg de almidón (peso seco) en tubos de vidrio con tapa, el cual se humedeció con 0.2 mL de etanol (80 % v/v) y se mezcló con el apoyo de un vortex. Se agregaron 2 mL de KOH 2M y se agitó por 20 minutos. Posteriormente se añadió 8 mL de buffer de acetato de sodio (pH 3.8) a cada tubo e inmediatamente se agregó 0.05 mL de  $\alpha$ -amilasa termoestable y 0.05 mL de amiloglucosidasa, se mezcló bien y se incubó en un baño maría a 50 °C durante 30 min. Después se transfirió el líquido a un matraz de 100 mL y se aforó con agua destilada, se mezcló y centrifugo una alícuota a 6500 rpm x 10 minutos. Se transfirió 0.1 mL del sobrenadante a un tubo (por duplicado). Se añadió 1.5 mL del reactivo GOPOD a cada tubo (incluyendo controles de glucosa y blanco) y se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Para el control de glucosa se agregaron en un tubo: 0.1 mL de D-Glucosa y 1.5 mL de GOPOD y se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Para el blanco se añadieron 0.1 mL de agua destilada y 1.5 mL de GOPOD y se incubaron a 50 °C por 20 minutos. Por último, las absorbancias se leyeron a una longitud de onda de 510 nm.

### **5.2.3 Amilosa aparente**

El contenido de amilosa del almidón se determinó por una modificación de la metodología de Hoover & Ratnayake (2001). El protocolo básico toma en cuenta la afinidad por el yodo de la amilosa e implica el desgrasado del almidón, la dispersión en dimetilsulfóxido (DMSO), la determinación de la absorbancia a 600 nm del almidón disperso de acuerdo con la precipitación de una curva estándar en el rango 0% a 100% de amilosa, utilizando mezcla de amilosa pura y amilopectina, para calcular el contenido total a partir de dicha curva.

Se tomó una muestra de 20 mg del almidón y se adicionó 8 mL de DMSO, se mezcló durante 20 minutos; posteriormente se llevó a punto de ebullición a 80 °C durante 15 min. Se dejó enfriar y se aforó a 25 mL con agua destilada. Se tomó un mL del almidón preparado y se adicionaron 40 mL de agua destilada, posteriormente se adicionaron 5 mL de yodo/yoduro de potasio ( $I_2/KI$ ), se aforó a 50 mL con agua; se dejó en reposo 15 min y se tomó la lectura a 600 nm (Hoover & Ratnayake , 2001).

### **5.2.4 Caracterización morfológica del almidón de malanga**

#### **5.2.4.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

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

### **5.2.5 Caracterización estructural del almidón**

#### **5.2.5.1 Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR)**

Las estructuras químicas del sistema almidón se caracterizaron por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR). La medición se realizó de acuerdo a la metodología de Han et al. (2020) con ligeras modificaciones. Los espectros obtenidos se suavizaron y la línea

base se corrigió automáticamente utilizando ORIGIN 8, con la finalidad de eliminar los ruidos en el espectro obtenido.

## **5.2.6 Caracterización fisicoquímica del almidón**

### **5.2.6.1 Gelatinización**

Las propiedades térmicas de los almidones fueron estudiadas usando un calorímetro diferencial de barrido modelo Q2000 (TA Instruments, New Castle, E.U.A.). Se evaluaron de acuerdo con el método propuesto por Paredes-López et al. (1994). Se pesaron 2 mg de muestra (en base seca, mínimo tres réplicas) dentro de una charola de aluminio, posteriormente se le adicionaron 7  $\mu\text{L}$  de agua desionizada. La charola se selló herméticamente y se dejó equilibrar por espacio de 1 h antes de realizar el análisis. Como referencia se utilizó una charola vacía. La muestra se sometió a un programa de calentamiento en un intervalo de temperatura de 20 a 120  $^{\circ}\text{C}$  y una velocidad de 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . La temperatura de inicio ( $T_i$ ), la temperatura de gelatinización o de pico ( $T_p$ ), la temperatura final ( $T_f$ ) y la diferencia de entalpía ( $\Delta H$ ) se obtuvieron directamente del análisis realizado con el software TA Instruments versión 4.7.4.

### **5.2.6.2 Análisis rápido de viscosidad (ARV)**

Para determinar el perfil de viscosidad de las dispersiones de almidón, se empleó la técnica propuesta por la AACC (2000). Se prepararon suspensiones de almidones al 14 % ( $p/v$ ) de sólidos totales, 29 g en total se transfirieron al tazón del analizador rápido de viscosidad (ARV-4 series, Newport Scientific Pty, Ltd, Warriewood, NSW, Australia), el cual se programó a un ciclo de calentamiento-cocción-enfriamiento, iniciando a 50  $^{\circ}\text{C}$  hasta 90  $^{\circ}\text{C}$ , a una velocidad de calentamiento de 8  $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$  y una velocidad de 160 rpm.

## **5.2.7 Cuantificación de compuestos bioactivos**

### **5.2.7.1 Determinación de compuestos fenólicos**

Se determinó de acuerdo con la metodología propuesta por Waterman (1994) con algunas modificaciones; en microtubos se colocaron 40  $\mu\text{L}$  de extracto, 960  $\mu\text{L}$  de agua destilada,



100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (al 50%) y 300 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (al 10%) se agitó y mantuvo en oscuridad por 2 h, finalmente se midió la absorbancia a 765 nm. Para determinar la concentración de cada extracto se utilizó una curva estándar de 0 a 500 ppm de ácido gálico (AG) y el resultado se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra.

### 5.2.7.2 Determinación de antocianinas monoméricas

La determinación de antocianinas monoméricas totales se determinó de acuerdo con la metodología de Del Carpio Jiménez et al. (2009) con modificaciones, en un microtubo se colocó 1.125 mL de solución buffer pH 1 y en otro, 1.125 mL de solución buffer pH 4.5, a cada tubo se le adicionó 125 µL de extracto y se le midió la absorbancia a 510 nm (longitud de onda de máxima absorbancia de las antocianinas) y a 700 nm en el espectrofotómetro, usando como blanco el buffer correspondiente.

La absorbancia final ( $A_F$ ) se calculó con la siguiente ecuación (Ecuación 1):

$$1. \quad A_F = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$$

El valor de la absorbancia se sustituyó en la siguiente ecuación (Ecuación 2) para obtener la concentración de antocianinas:

$$2. \quad \text{Antocianinas monoméricas (mg/L)} = \frac{A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000}{\xi \cdot 1}$$

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

## 5.2.8 Actividad antioxidante

### 5.2.8.1 ABTS<sup>+</sup>

La capacidad de eliminación de radicales libres de ABTS<sup>+</sup> se evaluó según Re et al. (1999), y este radical se obtuvo mediante la reacción de 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-

sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>) (7 mM) con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (2,45 mM) incubado a temperatura ambiente en oscuridad durante 16 horas. A continuación, se mezclaron 1050 µL del radical formado con 50 µL del extracto y se hizo reaccionar durante 30 min en la oscuridad. La absorbancia se midió a 732 nm y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (mg AAE/g).

#### **5.2.8.2 DPPH<sup>+</sup>**

Del mismo modo, la capacidad de eliminación de radicales libres de DPPH<sup>+</sup> se determinaron utilizando 1050 µL del radical estable, 2,2-difenil-1-picrilhidracina (DPPH<sup>+</sup>), que se hizo reaccionar con 50 µL de extracto durante 30 min en la oscuridad según los métodos de Brand-Williams et al. (1995). La absorbancia se midió a 515 nm y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (mg AAE/g).

### **5.3 Microencapsulación de antocianinas (Fase II)**

La preparación de la mezcla de alimentación para la formación de microencapsulado se realizó de acuerdo con un diseño compuesto rotatable, en donde las variables consideradas fueron la temperatura de entrada en un intervalo de 100 °C a 150 °C y la concentración de sólidos del material pared en un intervalo de 15% al 30%. Previo a la microencapsulación, la solución del almidón nativo se preparará realizando una dispersión del almidón en agua destilada, bajo agitación constante durante 10 minutos. Las antocianinas se disolvieron en la solución de almidón fría e inmediatamente la solución fue alimentada al secador (Mini Spray B-290, BUCHI Corporation, New Castle, DE).

#### **5.3.1 Diseño experimental compuesto rotatable**

Se utilizó un diseño experimental central compuesto rotatable, con las variables independientes de temperatura de entrada (100 a 150 °C) y contenido de sólidos del material pared (15 al 30%), obteniendo un total de 13 tratamientos, con un  $\alpha = 1.41421$  (**Tabla 2**)

### **5.3.2 Optimización**

Las condiciones del secado fueron optimizadas para determinar la máxima eficiencia de compuestos activos, actividad antioxidante y estabilidad. Las condiciones óptimas se determinaron empleando el método de máxima pendiente y utilizando la función de deseabilidad del programa Design Expert versión 7.1.6 (Stat-Fase, Inc, MN, USA).

Las respuestas seleccionadas para realizar la optimización fueron; compuestos fenólicos, antocianinas monoméricas, humedad,  $a_w$ , actividad antioxidante (ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>) y estabilidad (retención de compuestos activos).

**Tabla 2.** Diseño experimental central compuesto rotatable con dos variables independientes

Número de tratamientos	Temperatura de entrada (°C)	Almidón de malanga (% de sólidos)
1	100	15
2	150	15
3	100	30
4	150	30
5	90	22.5
6	160	22.5
7	125	11.89
8	125	33.1
9	125	22.5
10	125	22.5
11	125	22.5
12	125	22.5
13	125	22.5

### 5.3.3 Eficiencia de encapsulación

Se determinó siguiendo la metodología propuesta por Ávila-Reyes et al. (2014) a través de la liberación de las antocianinas microencapsuladas, con modificaciones. Se disolvieron 100 mg del polvo en 10 mL de una solución de agua peptonada al 1%. La solución se mantuvo en agitación constante por 15 min a 500 rpm y finalmente se realizó la determinación, el porcentaje de eficiencia de encapsulación se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula (Ecuación 3):

$$3. \quad \% \text{Eficiencia de encapsulación} = (N/N_0) * 100$$

Dónde:

N= Antocianinas salientes; No= Antocianinas entrantes

### **5.3.4 Evaluación de estabilidad de las microcápsulas**

#### **5.3.4.1 Prueba de envejecimiento acelerado**

Para determinar la estabilidad de las antocianinas se realizó una prueba de envejecimiento acelerado, las muestras (3 - 5 g) se almacenaron durante 4 semanas en desecadores con una humedad relativa de 52.86% y a una temperatura de 55 °C. Posteriormente, se tomaron muestras semanalmente para cuantificar compuestos fenólicos (apartado 5.2.7.1), antocianinas monoméricas (apartado 5.2.7.2), y actividad antioxidante (apartado 5.2.8)

### **5.3.5 Caracterización morfológica**

#### **5.3.5.1 MEB**

La morfología de las microcápsulas se determinará mediante MEB con el método descrito en el apartado 5.2.4.1

### **5.3.6 Caracterización fisicoquímica**

#### **5.3.6.1 Humedad**

El contenido de humedad se determinó utilizando el método 44-16 descrito por la AACC (2013). Se pesó 1 g de las microcápsulas obtenidas en charolas de aluminio y se dejaron en una estufa convencional a  $105 \pm 2$  °C por 4 h. El porcentaje de humedad se obtuvo por diferencia de pesos

#### **5.3.6.2 Actividad de agua ( $a_w$ )**

Se utilizó el equipo Aqua LAB V. 2.2 (Mod. 3TE, Decagon Devices, Inc., EE. UU.), como primer paso se calibró el equipo con carbón activado ( $a_w < 0.500$ ) y agua destilada ( $a_w = 1.000 \pm 0.003$ ); posteriormente se pesó 1 gramo de muestra y se introdujeron a la cámara, se anotó la lectura obtenida por triplicado.

### **5.3.7 Cuantificación de compuestos bioactivos**

#### **5.3.7.1 Compuestos fenólicos**

Se preparó la muestra del microencapsulado de la siguiente manera: se pesaron 200 mg las microcápsulas obtenidas y se colocaron en tubos de 50 mL, se añadieron 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%); se agitó vigorosamente por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantiene en agitación durante 10 minutos. Se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 30 min y se recuperó en sobrenadante, se tomó una alícuota de 40  $\mu$ L, se añadieron 960  $\mu$ L de agua destilada y se aforo a 2 mL para cuantificar los compuestos fenólicos se siguió la técnica descrita en el apartado 5.2.7.1

#### **5.3.7.2 Antocianinas**

Se pesaron 200 mg las microcápsulas obtenidas y se colocaron en tubos de 50 mL, se añadieron 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%); se agitó vigorosamente por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantiene en agitación durante 10 minutos. Se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 30 min y se recuperó en sobrenadante, se tomó una alícuota de 1 mL para cuantificar el contenido de antocianinas se siguió la técnica descrita en el apartado 5.2.7.2.

### **5.3.8 Determinación de actividad antioxidante**

Se pesaron 200 mg las microcápsulas obtenidas y se colocaron en tubos de 50 mL, se añadieron 5 mL de metanol acidificado (HCl al 1%); se agitó vigorosamente por 10 segundos en un vórtex, posteriormente se mantiene en agitación durante 10 minutos. Se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 30 min y se recuperó en sobrenadante, se tomó una alícuota de 200  $\mu$ L para cuantificar la actividad antioxidante se siguió la técnica descrita en el apartado 5.2.8

## 5.4 Bioaccesibilidad, actividad biológica y ante estrés oxidativo (Fase III)

### 5.4.1 Bioaccesibilidad de antocianinas encapsuladas bajo condiciones gastrointestinales

Se adaptó el modelo estático de la digestión de la boca, el estómago e intestino. La solución de saliva se preparó disolviendo 0.2%  $\alpha$ -amilasa en solución salina, a la cual el pH se mantuvo a  $6.8 \pm 0.2$ . Se preparó el jugo gástrico simulado (SJG) disolviendo 3 g/L de pepsina en solución estéril de NaCl (9 g/L) y el pH se ajustó a 3.0 con 1.0 mol/L HCl. El jugo intestinal simulado (SJI) se preparó disolviendo 3 g/L<sup>-1</sup> sales biliares y 10 g/L<sup>-1</sup> pancreatina en solución salina con fosfato, el pH se mantuvo a 8 con una solución de NaOH 0.1 M. El SJG y el SJI se preparó con el método de (Gani et al., 2018). Se colocaron muestras del microencapsulado optimizado (100 mg) en un matraz Erlenmeyer de 125 mL se encubó a 37 °C bajo agitación constante, se fueron adicionando al mismo tubo las soluciones de simulación secuencialmente de la siguiente manera:

1. Boca: adición de 10 mL de jugo salival y mezcla durante 5 minutos y se tomó una alícuota (1mL)
2. Estómago: adición de 10 mL SGJ y después de agitar se tomó una alícuota (1mL) después de 30 minutos y 1 hora de incubación
3. Intestinal: adición de 10 mL de SJI después de agitar constantemente, se tomaron alícuotas (1mL) después de 2 h y 4 h. Todas las alícuotas se centrifugaron a 6 000 rpm durante 5 min y el líquido sobrenadante se filtró a través de un filtro de membrana de 0.22  $\mu$ m (Ahmad et al., 2018), para posteriormente determinar el contenido de antocianinas por cada fase intestinal, de acuerdo a la metodología descrita en el apartado 5.2.7.2

## 5.5 Inhibición de actividad enzimática

Se realizó una curva de inhibición de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa con antocianinas en forma directa y microencapsulada siguiendo la metodología propuesta por Wang (2020) de la siguiente manera:

1. *Se preparó una solución de almidón nativo de malanga (dispersión en buffer de fosfato a pH 6.9, 0.2 M) se calentó a baño de agua a 90 °C durante 20 minutos, para preparar sustrato de almidón al 1%.*

2. Se incubó una solución de  $\alpha$ -amilasa (80 U/mL con buffer de fosfatos), agregando diferentes concentraciones de antocianinas (50, 100, 150, 300 500 mg/ml) a 37 °C durante 5 minutos.
3. Posteriormente se agregaron 800  $\mu$ L de sustrato de almidón para iniciar la reacción a 37 °C durante 10 minutos, posteriormente para interrumpir la reacción se agregó 1 mL de DNS.
4. Cada muestra se llevó a ebullición y se diluyó con 2 ml de agua destilada, y se determinó su absorbancia a 540 nm.
5. La acarbosa (20 a 100 mg/ml) se tomó como compuesto de comparación.
6. Se preparó un control blanco reemplazando la solución de  $\alpha$ -amilasa y almidón con el mismo volumen de buffer de fosfato (pH 6.9). Se preparo el control reemplazando las antocianinas con el mismo volumen de buffer de fosfato. La tasa de inhibición se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación (Ecuación 4):

$$4. \quad \% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}} * 100$$

El tipo de inhibición enzimática se determinó gráficamente usando el diagrama de Lineweaver-Burk seguido del cálculo de la constante de Michaelis-Menten (Km) y la velocidad máxima (Vmax) de acuerdo a lo publicado por Yang (2020) para antocianinas aciladas en la inhibición enzimática de  $\alpha$ -amilasa (Ecuación 5):

$$5. \quad \frac{1}{v} = \frac{Km}{v_{max}} * \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

La inhibición IC 50 se utilizó para evaluar la eficiencia de inhibición (Ecuación 6)

$$6. \quad IC_{50} = Ki \left(1 - \frac{[S]}{Km}\right)$$

Dónde Ki es la constante de inhibición, [S] es la concentración se sustrato y es el valor arreglado para 5 mg/MI en el cálculo de IC<sub>50</sub> para cada concentración de antocianina. Km es la constante de Michaelis-Menten. Además, se obtuvieron las constantes de unión de antocianina con enzima libre o el complejo enzima-sustrato (Ki y Kis) de la gráfica secundaria con las siguientes ecuaciones (Ecuación 7 y 8)

$$7. \quad \text{Pendiente} = \frac{Km[I]}{KiV_{max}} + \frac{Km}{v_{max}}$$

$$8. \quad \text{Intercepto} = \frac{[I]}{KisV_{max}} + \frac{1}{v_{max}}$$



Dónde I es la concentración de inhibidor

## 5.6 Proyección virtual

La proyección virtual se realizó con Autodock (versión 21) y PyRx. Las estructuras químicas 2D de las antocianinas se descargaron de la base de datos Pubchem, se minimizaron energéticamente usando el método MM2 y se guardó en formato .pbd. Estos archivos se convirtieron en .pdbqt. La estructura de la  $\alpha$ -amilasa fue descargada del sitio web RCSB PDB y preparada con Autodock como archivo .pdbqt. Se selecciono el algoritmo para proyección virtual y se generaron las conformaciones para las antocianinas, los resultados se clasificaron en función de la predicción más baja de energía de enlace.

Se aplicó el acoplamiento molecular para especular sobre los posibles sitios de unión entre el ácido ferúlico y la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa. Las estructuras cristalinas de  $\alpha$ -amilasa (código PDB: 1 NHY) se descargó del Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>). Los ligandos y el agua se eliminaron de 5KEZ y 3A4A para obtener un receptor estable para las antocianinas. La estructura tridimensional de las antocianinas se construyó utilizando el software ChemiBio3D Ultra 14.0. Los procesos de unión se analizaron visualmente utilizando el software PyRx, los parámetros (p. ej., la energía de unión y las distancias de los enlaces de hidrógeno) se obtuvieron en función de los resultados del acoplamiento.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una y dos vías con un nivel de significancia del 95% ( $\alpha=0.05$ ). Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas, y para la comparación de medias se utilizó el método de comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey al mismo nivel de significancia. Para la obtención de los resultados se utilizó el programa estadístico SIGMA PLOT 12.0

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 7.1 Almidón y extracto de antocianinas (Fase I)

#### 7.1.1 Aislamiento del almidón

El tubérculo de malanga es una fuente rica de almidón (Lebot et al., 2011), el rendimiento total del aislamiento en este estudio fue del 16.6% utilizando el método húmedo con centrifugación y secado (método convencional); de acuerdo a lo publicado en el año 2020 sobre la caracterización y aplicación de este almidón la variabilidad del porcentaje depende en su mayoría de la técnica utilizada, aunque también intervienen factores genéticos, variedad de la fuente botánica y la etapa de cosecha, de acuerdo al metaanálisis publicado el rendimiento máximo con un método convencional, se puede obtener de 7 hasta el 18.6%; (Singla et al., 2020). En comparación algunos métodos enzimáticos, aumentan considerablemente el rendimiento que podría ser desde el 14 a 18% con la ventaja de la disminución del tiempo durante el proceso (Sit, Misra, et al., 2014); el tratamiento ultrasónico favorece el rendimiento de un 15 a 19%, la combinación de tratamiento enzimático y ultrasónico no sólo favorece el rendimiento, además mejoran la solubilidad, intervienen en el poder de hinchamiento y el comportamiento de retrogradación, con lo que se pudiera mejorar las condiciones de calidad tanto para su uso alimentario como no alimentario (Sit et al., 2015).

#### 7.1.2 Pureza del almidón

La pureza del almidón obtenido depende en gran medida de la técnica de aislamiento, así como de la metodología para determinar el contenido de almidón total, de acuerdo a los resultados de estudios metodológicos el contenido de almidón en 315 genotipos de *Colocasia esculenta* fue de alrededor 85%, específicamente de tubérculos de la región asiática (Singla et al., 2020). En este estudio la pureza del almidón fue mayor con el  $87.61 \pm 1.4\%$  (**Tabla 3**) utilizando una técnica convencional para el aislamiento y una metodología enzimática para dicha determinación; en comparación con otras fuentes de origen mexicano fue superior a la de origen oaxaqueño que presentó un 83% de pureza en las mismas condiciones

metodológicas de aislamiento y determinación (Hoyos-Leyva et al., 2018); en contraste con estos resultados se ha podido obtener hasta un 96% de almidón, debido a la utilización de procesos de purificación del almidón utilizando NaOH para disminuir el contenido proteico y una solución de cloroformo y metanol (V/V 2:1) para disminuir con contenido lipídico (Hazarika & Sit, 2016; Simsek & El, 2012)

### **7.1.3 Contenido de amilosa aparente**

Por lo general, las características funcionales del almidón están determinadas por la proporción de amilosa y amilopectina (Reddy et al., 2016); la variación en el contenido puede atribuirse a los distintos genotipos, condiciones climáticas y del medio de cultivo (Sukhija et al., 2016). En este estudio el contenido de amilosa aparente fue del  $11.73 \pm 1.17\%$  (**Tabla 3**), utilizando la metodología de colorimetría de unión de yodo, resultado similar al contenido de otro tubérculo como la yuca con 17.1%, pero inferior al almidón de papa que presentó 26.4%, esto habla de las diferencias por fuente botánica (X. Wang et al., 2018); complementado esta información de acuerdo a los resultados obtenidos en 315 genotipo de almidón de taro osciló en un rango de 10 a 49%, debido principalmente a la metodología utilizada para determinar el contenido de amilosa (Lebot et al., 2011).

El contenido de amilosa puede variar en relación a la modificación a la que es sometido el almidón de malanga, como en el caso del estudio publicado por Hazarika y Sit (2016) el almidón en su forma nativa fue del 21.65%, mientras que con la modificación dual con hidroxipropilación y entrecruzamiento disminuyó hasta el 18%, este comportamiento se debe a la liberación de amilosa durante las horas de modificación (Hazarika & Sit, 2016); por otro lado el tratamiento con microondas favoreció el porcentaje de amilosa de 13.9 a 20.8%, debido a que la red de almidón altamente energizada se rompe de las cadenas complejas de amilopectina a cadenas lineales (Deka & Sit, 2016).

El bajo contenido de amilosa como es el caso del almidón de malanga obtenido en este estudio le otorga ciertas características favorables para la microencapsulación de compuestos activos; se ha sugerido que una relación de amilosa-amilopectina cercana a 25:75 se asocia con la alta eficiencia de encapsulación, con un contenido menor al 20% de agua, mayor estabilidad y una velocidad de liberación más rápida (Magallanes-Cruz et al., 2017; Schirmer

et al., 2013); el mayor contenido de amilopectina ofrece mayor capacidad de retención y mejor protección; en contraste a ello un mayor contenido de amilosa puede ser ventajoso para la microencapsulación de compuestos de ácidos grasos, debido a la capacidad de formar complejos con moléculas pequeñas ya que las hélices de amilosa tienen una superficie exterior hidrófila y un canal helicoidal hidrófobo donde se pueden acomodar los materiales (Du et al., 2014).

**Tabla 3.** Caracterización del almidón nativo de malanga

<b>Característica</b>	<b>Total</b>
Aislamiento (%)	16.6
Pureza (%)	87.61±1.14
Amilosa aparente (%)	11.73±1.17

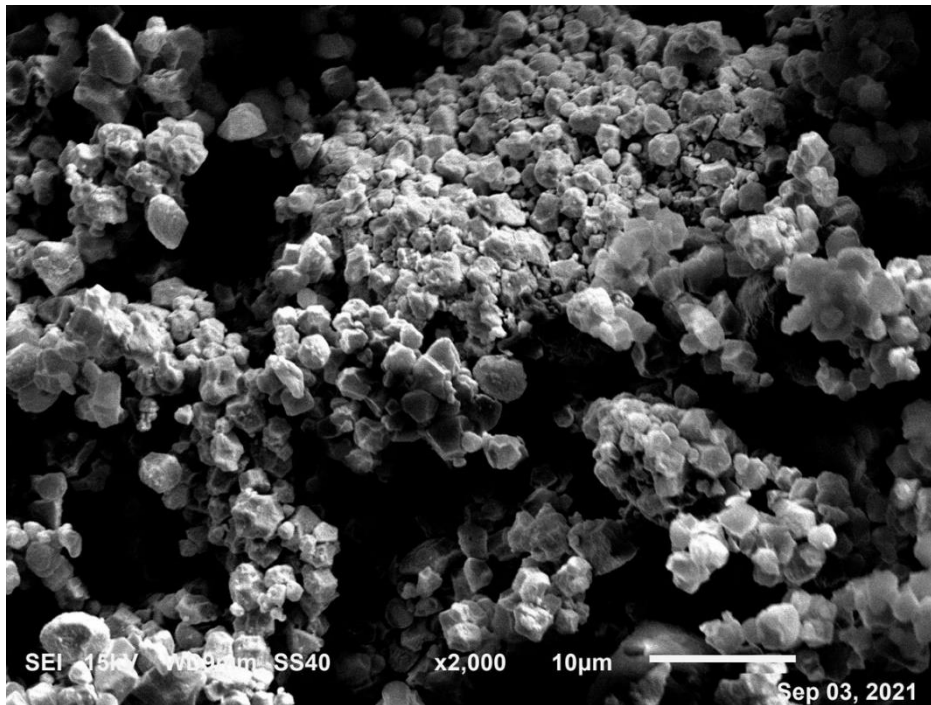
#### **7.1.4 Caracterización morfológica del almidón**

##### **7.1.4.1 MEB**

La morfología de los gránulos del almidón varía según el genotipo de la planta, la bioquímica del cloroplasto y amiloplasto, así como la fisiología del vegetal (Zeng et al., 2014). De acuerdo con las imágenes obtenidas por la MEB, los gránulos presentaron un tamaño pequeño y forma poligonal e irregular (**Figura 9**), muy similares en forma y tamaño a los gránulos de taro mexicano, chino y brasileño examinados por Agama-Acevedo et al. (2011), Rincon-Aguirre (2017), Martins et al. (2020) y Zeng et al. (2011), respectivamente. El tamaño promedio de los gránulos de tubérculos y raíces son simples (cuando se forma un gránulo por amiloplasto), a excepción del taro que parecen tener una mezcla de gránulos simples y compuestos (cuando se forman dos gránulos por amiloplasto) (Hoover, 2001). El tamaño y forma de los gránulos de almidón pueden influir en las características fisicoquímicas y funcionales, se ha relacionado gránulos más grandes con mayor viscosidad (Agama-Acevedo et al., 2011).

La modificación térmica, enzimática y por ultrasonido genera cambios morfológicos en los gránulos, ocasionando grietas y/o poros; estos cambios físicos depende de la temperatura y

estructura del mismo gránulo; incluso podrían ocasionar la reducción del tamaño (Martins et al., 2020).



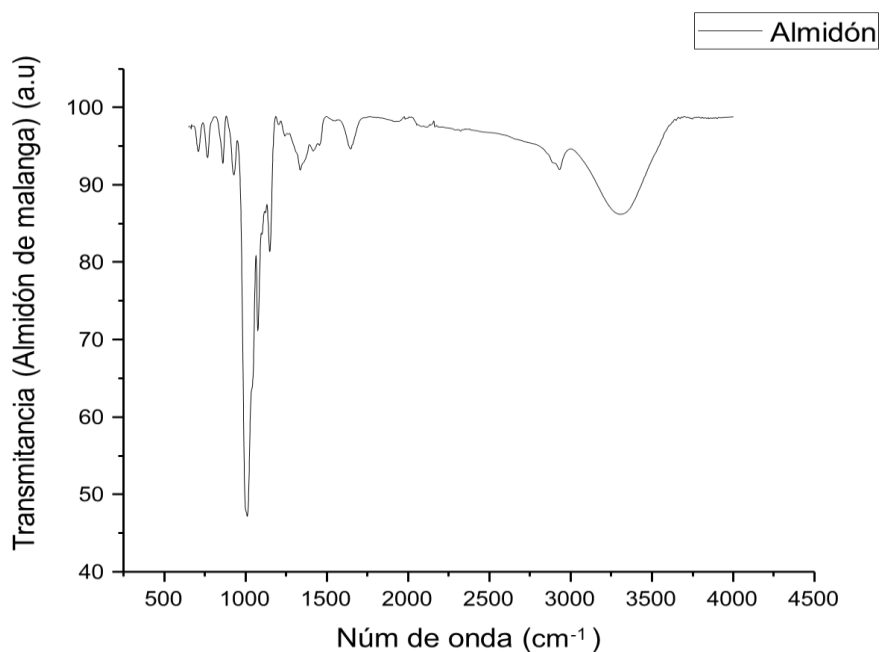
**Figura 9.** imágenes de MEB de almidón nativo de malanga a x2000

## 7.1.5 Caracterización estructural del almidón

### 7.1.5.1 FTIR

Los espectros FTIR mostraron dos bandas distintivas que se consideran comúnmente para evaluar la estructura molecular de biomateriales (**Figura 10**). La banda ancha en  $\sim 1080$  a  $950\text{ cm}^{-1}$  refleja el estiramiento C-O, C-C y CH y las vibraciones de flexión C-O-H de los grupos de carbohidratos (Warren et al., 2016). Esta amplia banda ha sido considerada como una huella dactilar de la estructura del almidón de malanga (Pachuaú et al., 2018), encontrando que la banda cercana a  $1022\text{ cm}^{-1}$  es característica de la región amorfa del almidón, mientras que las bandas cercanas a  $995$  y  $1047\text{ cm}^{-1}$  son más prominentes en las regiones cristalinas. De esta forma, las diferencias en la intensidad de las bandas ha sido propuesta como indicador de estructuras ordenadas en el almidón (Warren et al., 2016). La banda  $995\text{ cm}^{-1}$  se debe principalmente a las vibraciones de flexión del COH y es sensible a las interacciones agua-almidón, incluidos los enlaces de hidrógeno.

Por otro lado, la banda ancha en  $1700\text{-}1600$  con un pico grande  $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$  puede ser atribuida al estiramiento C=O y está vinculado al grupo amida I. (Vernon-Carter et al., 2020).



**Figura 10.** Espectro FTIR de almidón de malanga

### 7.1.5.2 Gelatinización

Durante el proceso de gelatinización la estructura cristalina de doble hélice de la amilopectina desaparece, por lo que es una forma de distribuir estabilidad en la fracción cristalina del almidón y se revela a través del rango de entalpía ( $\Delta H$ ) (X. Wang et al., 2018). En cuanto a la CDB (**Tabla 4**), las propiedades térmicas del almidón de malanga presentaron un valor de  $\Delta H 10.56 \pm 1.29$ , con  $79.28\text{ }^{\circ}\text{C}$  de temperatura de gelatinización; esta propiedad térmica se relaciona con la modificación de la estructura cristalina de doble hélice de la amilopectina, por lo tanto, es una forma de desestabilizar la fracción cristalina y se revela a través del rango de entalpía; resultados similares de temperatura de gelatinización presentó el almidón de malanga de la india ( $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), gracias a ello el material presentó la condición necesaria para garantizar la estabilidad del almidón para utilizarlo como material de películas bioplásticas (Shanmathy et al., 2021); en el caso de malanga de origen mexicano los resultados son similares a lo publicado por Rincón-Aguirre (2020), que hizo una serie de análisis térmicos en la forma nativa y fosforilada, el resultado del termograma fue una temperatura máxima de gelatinización de  $77.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una entalpía de  $10.85\text{J/g}$ , esta transición se debe al proceso de disociación de las moléculas de amilosa y amilopectina en los gránulos y la lixiviación de la amilosa durante la fase continua (Carmona-García et al., 2009). Wang (2018), comparó la temperatura de gelatinización y entalpía con otras fuentes de almidón como la yuca, el arrurruz, ñame y frijoles, reportó que al igual que en éste estudio, el almidón de malanga presentó una alta temperatura de gelatinización ( $83\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y una entalpía similar y comparable de  $12.48\text{ J/g}$ , lo que significa un mayor grado de estabilidad con defectos estructurales mínimos (Sukhija et al., 2016).

Cuando el almidón de malanga es sometido a modificación por ácido cítrico presenta una disminución importante tanto en la temperatura de gelatinización como en la entalpía (Pachau et al., 2018); por el contrario la modificación por tratamientos térmicos y por ultrasonido incrementó la temperatura de gelatinización, debido a la reducción en el potencial de hinchamiento promovido por el ultrasonido y el aumento del contenido de humedad llevo

a la formación de aglomerados que disminuyen el intercambio de calor; por otro lado el tratamiento térmico incrementa la interacción lipídica, reduciendo la movilidad de las cadenas amorfas, que en consecuencia requiere mayor temperatura para la transición de la fase vítrea del almidón ocasionando la reducción de la entalpía cuando el tiempo de modificación incrementó, debido a que la cadena adquiere una forma más ordenada (Thomaz et al., 2020), sin embargo, cuando la modificación únicamente es a través de procesos de ultrasonido, el comportamiento no presenta modificaciones en estos parámetros, cómo lo reportado en malanga de origen brasileño que fue sometido a la modificación ultrasónica y no modificó la estructura de la doble hélice del almidón (Martins et al., 2020)

**Tabla 4.** Parámetros de análisis de perfil térmico, mediciones realizadas al almidón nativo mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB)

To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔH (J/g)
75.53±0.28	79.28±0.28	86.25±1.20	10.56±1.29

### 7.1.5.3 Análisis Rápido de Viscosidad (ARV)

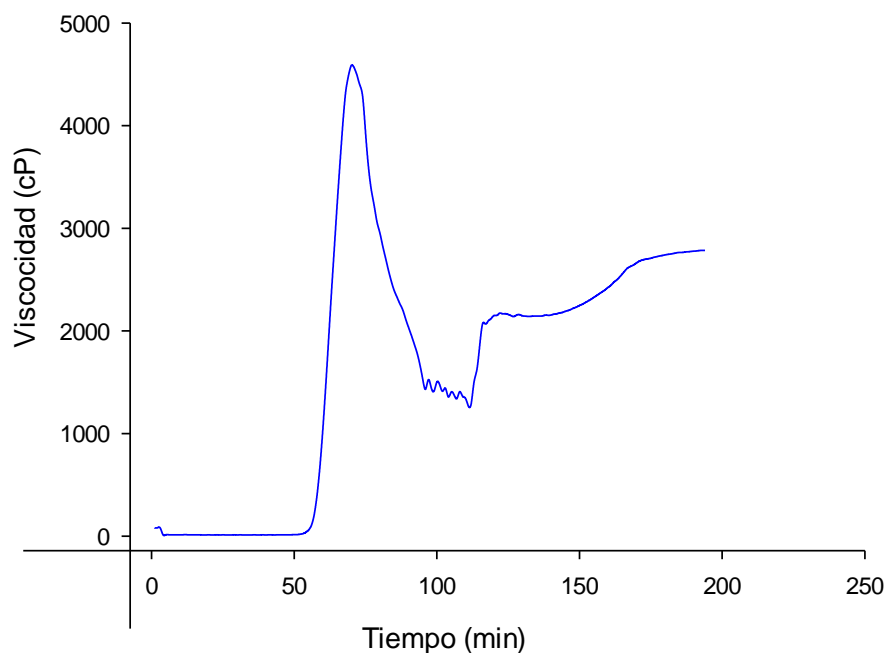
El perfil de viscosidad máxima refleja la capacidad del almidón para hincharse libremente antes de su descomposición física (Singh et al., 2003); las propiedades de pegado se emplean para determinar la respuesta del almidón cuando se somete a ciclos de calentamiento y enfriamiento que a gran nivel influyen en su patrón estructural; la viscosidad pico se asocia con el contenido de amilosa, la distribución de la longitud de la cadena ramificada de la amilopectina y componentes menores (Hoyos-Leyva et al., 2019; Zhao & Whistler, 1994).

El resultado del ARV, se puede observar en la **Figura 11**, en la cual la viscosidad máxima fue de 4616±8.08 cP con 82.4 °C de temperatura de pasta. Se puede observar que el pico máximo de viscosidad del almidón de malanga se alcanza a temperaturas más bajas en comparación de otros almidones de gránulo pequeño como el amaranto, lo que indica una estabilidad térmica que puede ser útil para la microencapsulación de compuestos bioactivos (Gonzalez-Soto et al., 2011). Resultados similares se reportaron en almidón de origen mexicano publicado por Rincon-Aguirre (2020) con una temperatura de pasta de 81.57 °C,



los resultados de almidón de origen brasileño fue de 83.3 °C publicados por Martins et al. (2020); ambos almidones disminuyeron en este parámetro al ser sometidos a modificaciones químicas y térmicas, respectivamente, debido principalmente a la resistencia a la retrogradación que adquieren con los procesos de modificación.

El almidón evaluado en este estudio se caracterizó por presentar una viscosidad final más baja en comparación con la máxima, resultados similares a lo publicado por Thomaz et al. (2020) en malanga de origen brasileño, esto sugiere que el almidón tiene una baja tendencia a la retrogradación, donde se produce el reordenamiento de las cadenas de amilosa y amilopectina durante el enfriamiento de la pasta con la consiguiente liberación de agua (Wang et al., 2015); además de la relación amilosa-amilopectina la resistencia a la retrogradación puede estar relacionado con el contenido de lípidos que afectan en gran medida las propiedades de pasta y disminuye la viscosidad (Pereira et al., 2017)



**Figura 11.** Termograma de almidón nativo de malanga

### 7.1.6 Cuantificación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante del extracto de antocianinas

En la **Tabla 5** se presenta la caracterización de compuestos activos y actividad antioxidante del extracto de antocianinas, la cual se utilizó a una dilución 1:100 (V: V extracto: agua destilada).

Extracto de antocianinas	Fenoles totales mg EAG/ mL	Antocianinas mg EC-3-G/mL	ABTS <sup>+</sup> mg EAA/mL	DPPH <sup>+</sup> mg EAA/mL
Dilución 1:100	1102.17±2.1	561.08± 3.3	218.2±0.41	184.67± 1.1

**Tabla 5.** Caracterización de extracto de antocianinas

### 7.1.7 Compuestos fenólicos

EAG= Equivalentes de ácido gálico; EC-3G= Equivalentes de cianidina-3-glucósido; EAA= Equivalentes de ácido ascórbico

et al., 2016). En el caso de la composición fenólica de las papas ha sido reportada en múltiples estudios y se ha observado que principalmente contienen antocianinas, flavonoides, y carotenoides (Friedman et al., 2017). Para el desarrollo de esta investigación se utilizó un extracto comercial que ha sido concentrado en antocianinas; como se observa en la **Tabla 5** el total de compuestos fenólicos fueron de 1102.17 mg EAG/mL. Resultados similares fueron obtenidos en la determinación de doce variantes de papas cultivadas en la región sur de Chile (1304 mg EAC/mL) (Ah-Hen et al., 2012). Resultados inferiores fueron reportados en papas de la región de Polonia (348.4 mg EAG/g) (Narwojsz et al., 2020). Por otro lado, el total de estos compuestos fue menor al obtenido en tubérculos de origen chileno en 2018 (2975 mg EAG/mg) (Ruiz et al., 2018). Las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos totales del mismo origen vegetal, podría deberse al contenido de antocianinas, al contenido de compuestos con actividad antioxidante y a las diferencias en la obtención del extracto (Gutiérrez-Quequezana et al., 2018).

#### 7.1.6.1 Antocianinas totales

El extracto utilizado en esta investigación está basado en el concentrado de antocianinas de papa morada (*Solanum tuberosum*) cultivada en la región de Oaxaca México, las papas pigmentadas brindan una fuente prometedora de antocianinas aciladas (Spooner et al., 2014); la acilación de los restos de glucósido de las antocianinas cambia las propiedades químicas, proporcionando una mayor estabilidad estructural (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Zhao et al., 2017). En la naturaleza se encuentran ampliamente en tubérculos y vegetales comestibles y en menor medida en bayas y frutas (Andersen & Jordheim, 2010b). Los pigmentos acilados forman más del 98% del contenido total de las antocianinas de las papas moradas, mientras los glucósidos individuales difieren en patrón de acilación por el tipo de ácido, las papas con pigmentos rojos contienen principalmente glucósidos de pelargonidina acilada, que comprende aproximadamente el 80%; mientras que las papas de pulpa azul contienen además de pelargonidina, glucósidos de petunidina en una proporción 2:1 (Brown et al., 2003).

Las dos antocianinas principales que se encuentran en la papa son delphinidina y peonidina asociadas al color rojo (Lachman & Hamouz, 2004; Oertel et al., 2017); mientras que los derivados de malvidina y petunidina se pueden asociar más con papas de color morado (Hillebrand et al., 2009). Como se observa en la **Tabla 5**, el contenido de antocianinas fue de 561.08 mgEC-3-G/mL; en comparación con extractos de la misma fuente vegetal, fue muy superior en la concentración de antocianinas en papas cultivadas en diversas regiones de Ecuador, publicadas por Samaniego et al. (2020) con 172  $\mu$ gEC-3-G/g, en papas de origen mexicano cultivadas en Canadá (Wang et al., 2011) 125  $\mu$ gEC-3-G/g. Sin embargo fue similar al contenido en el extracto de papas cultivadas en Estados Unidos 440 mg EC-3-G/mL (Reyes et al., 2004) y extracto de papas de origen chileno (Vergara et al., 2020) 500 mg EC-3-G/mL. Las diferencias en el contenido y composición de antocianinas se explican por aspectos genéticos y aspectos geográficos (Samaniego et al., 2020; Vergara et al., 2020)

#### 7.1.6.2 Actividad antioxidante (ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>)

La actividad antioxidante de las antocianinas está determinada, entre otras propiedades, por el número de grupos hidroxilo en su molécula, por lo que la petunidina tiene mayores efectos

antioxidantes en comparación con malvidina, peonidina o pelargonidina (Lachman & Hamouz, 2004); así mismo está determinada por el contenido de fenoles (principalmente de isómeros de ácidos clorogénicos) (Kj et al., 1999). La acilación de las antocianinas de papa con ácidos cinámicos cambia la coloración a una sombra azul y mejora en gran medida su eficacia antioxidante total, por el contrario la sustitución glucosídica en la posición 5 reduce la actividad antioxidante al igual que la sustitución de la posición 3 (Lachman & Hamouz, 2004). El total de mg AAE/g para ABTS<sup>+</sup> fue de 218.2 y de DPPH<sup>+</sup> fue de 184.6 mg AAE/g (**Tabla 5**), resultados similares se presentaron en los extractos de papa en regiones de México, Estados Unidos, Chile y Ecuador (Reyes et al., 2004; Samaniego et al., 2020; Vergara et al., 2020; Wang et al., 2011)

## 7.2 Microencapsulación (Fase II)

La encapsulación del extracto de antocianinas se realizó aplicando el Diseño Central Compuesto (DCC) por la MSR; para estudiar las condiciones óptimas por medio de secado por aspersión, el diseño combina un diseño factorial de dos niveles y un diseño axial; los puntos centrales (Temperatura de entrada de 100 a 150 °C y porcentaje de concentración de sólidos de 15 al 30%) son necesarios para realizar un número pequeño de experimentos, que permitan evaluar el total de las 13 combinaciones posibles (Narendran et al., 2019). Estos valores se basaron en estudios preliminares de encapsulación de extractos de antocianina en almidón como material pared.

Las variables de respuesta evaluadas fueron: rendimiento (%), contenido de humedad (%),  $a_w$ , Eficiencia de encapsulación para compuestos fenólicos totales (mg EAG/mL), antocianinas totales (mg EC-3-G/mL), capacidad antioxidante determinada por la inhibición de los radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup> y estabilidad de los compuestos activos y actividad antioxidante sometidos a condiciones de envejecimiento acelerado.

En la **Tabla 6** se muestran las condiciones del proceso con las respectivas variables de respuesta

,

**Tabla 6.** Caracterización basal del microencapsulado por tratamiento propuesto desde el diseño experimental compuesto rotatable

Tx	Parámetros Independientes		Parámetros Dependientes							
	Temperatura (°C)	Almidón (%)	Rendimiento (%)	Humedad (%)	a <sub>w</sub>	Compuestos Fenólicos (µg EAG/g)	Antocianinas Totales (mg EC-3-G/g)	ABTS <sup>+</sup> (mg EAA/g)	DPPH <sup>+</sup> (mg EAA/g)	Estabilidad (6 semanas) (%)
1	100.0	15.0	67.36	12.87±0.05	0.215	947.82±4.3	483.15±5.1	121.23±0.3	92.89±0.1	52.65±1.0
2	150.0	15.0	72.05	7.86±0.05	0.213	857.92±4.5	431.94±6.9	108.63±0.2	81.09±0.2	38.79±0.5
3	100.0	30.0	71.34	9.11±0.01	0.212	600.01±5.7	306.14±1.9	89.69±0.1	71.08±0.2	14.36±0.2
4	150.0	30.0	68.58	7.94±0.03	0.224	503.62±2.5	306.14±1.8	119.43±0.1	87.05±0.2	37.39±0.1
5	90.0	22.5	66.40	9.56±0.05	0.214	615.21±2.1	264.95±1.9	109.66±0.2	85.38±0.2	22.94±0.4
6	160.3	22.5	63.83	12.16±0.05	0.213	503.62±5.7	325.07±1.7	105.29±0.2	74.53±0.2	25.85±0.2
7	125.0	11.8	59.90	12.03±0.02	0.213	1035.50±5.4	260.50±3.3	90.55±0.1	67.98±0.1	40.76±0.1
8	125.0	33.1	44.30	8.26±0.03	0.234	431.15±3.3	536.59±1.6	119.72±0.3	98.97±0.2	22.05±0.1
9	125.0	22.5	61.75	4.63±0.04	0.212	767.02±1.2	227.10±3.2	133.85±0.1	124.01±0.2	35.99±0.6
10	125.0	22.5	70.92	4.89±0.01	0.212	768.11±2.1	405.22±3.1	132.48±0.2	123.53±0.1	36.11±0.3
11	125.0	22.5	61.75	4.76±0.03	0.212	767.39±0.2	400.77±3.2	133.61±0.1	125.67±0.3	35.81±0.8
12	125.0	22.5	70.92	5.76±0.05	0.211	768.11±1.2	405.26±5.7	133.95±0.1	127.58±0.2	36.12±0.3
13	125.0	22.5	61.75	5.72±0.06	0.212	767.39±2.1	405.22±2.8	134.92±0.2	126.63±0.3	36.12±0.4

a<sub>w</sub>= Actividad de agua; EAG= Equivalentes de ácido gálico; EC-3G= Equivalentes de cianidina-3-glucósido; EAA= Equivalentes de ácido ascórbico

### 7.2.1 Rendimiento

En la **Tabla 7** se presenta el ANDEVA para la variable de respuesta rendimiento del proceso de encapsulación; se puede observar que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0.8291, estadísticamente significativa; en la **Tabla 8**, se muestra cómo la variabilidad del rendimiento está determinado en forma lineal por la temperatura y el porcentaje de almidón, mientras que en la forma cuadrática únicamente por la temperatura.

**Tabla 7.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del porcentaje del rendimiento del ME

Respuestas	$R^2$	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
Rendimiento (%)	0.8291	4.62	32.02	< 0.0001	< 0.0001

**Tabla 8.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de rendimiento (%).

Respuesta	Intercepto	Lineales		Interacción	Cuadráticos	
	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_{12}$	$b_{11}$	$b_{22}$
Rendimiento	70.95 (< 0.0001)	3.04 (< 0.0001)	3.16 (< 0.0001)	-0.43 (0.6270)	-6.94 (< 0.0001)	-1.55 (0.0257)

$b_1$  = Temperatura de secado ( $^{\circ}$ C) y  $b_2$ = concentración de sólidos (%)

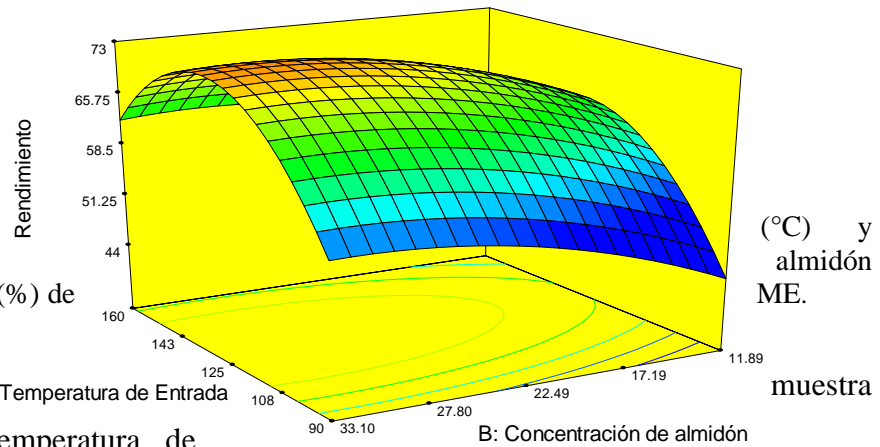
Rendimiento

76.2044

51.7067

X1 = A: Temperatura de Entrada  
X2 = B: Concentración de almidón

**Figura 12.** Efecto de la temperatura de secado concentración de (°C) y almidón ME. (%) sobre el rendimiento (%) de muestra



En la **Figura 12** se muestra el efecto cómo la temperatura de

entrada y la concentración de material pared es independiente a la variable de rendimiento; se puede observar que el porcentaje máximo del rendimiento fue con temperatura de entrada cercana a los 125 °C (con un porcentaje de almidón cercano al 22%). Valores similares fueron reportados en la encapsulación de antocianinas de maíz azul usando almidón de maíz fosforilado, el mayor rendimiento se obtuvo a una temperatura de entrada cercana a los 170 °C, independientemente de la concentración de sólidos y alcanzó hasta un 49.11% de rendimiento (García-Tejeda et al., 2016); para la encapsulación de papa morada, utilizando maltodextrina como material pared, se obtuvo hasta el 58.9% de rendimiento a una temperatura cercana a 130 °C (Vergara et al., 2020). Este comportamiento de la variabilidad del rendimiento afectado en la forma cuadrática por la temperatura de entrada podría deberse a que el incremento este factor durante el proceso de secado permite que las microcápsulas sequen completamente, reduciendo el contenido de agua y evitando su adherencia en la columna de secado (García-Tejeda et al., 2018).

En contraste, se reportaron comportamientos diferentes en la encapsulación de antocianinas a partir de orujo de uva utilizando maltodextrina y celulosa como material pared, a una temperatura de secado de 140 °C; se observó que, a mayor contenido de maltodextrina con celulosa, disminuyó de forma simultánea el rendimiento; este efecto de debe a la susceptibilidad del material pared al ser sometido a altas temperaturas de secado que ocasionó el incremento en la transición vítrea del polvo (Boonchu & Utama-Ang, 2015). Otra investigación que obtuvo resultados diferentes a los presentados, fue en el encapsulado de aceite de granada utilizando almidón succinatado de malanga y ciclodextrina como material

pared, en la que el rendimiento tuvo un rango de 23 a 48% a una temperatura cercana a los 170 °C y un porcentaje de sólidos cercano al 10%, en el cual el porcentaje de sólidos tuvo un efecto significativo en el rendimiento; esto se debe principalmente a la naturaleza lipídica del compuesto activo que al contacto con la estructura del almidón modificado es capaz de fugarse del sistema y quedarse adherido a la pared de la columna de secado del equipo, disminuyendo considerablemente el rendimiento (Cortez-Trejo et al., 2021).

Las diferencias en el comportamiento de la variable de respuesta, en otros sistemas de encapsulación se debe principalmente a dos factores: la estructura del material pared, en este caso el almidón de malanga, en su forma nativa al ser sometido a un proceso de secado a cierta temperatura evita su adherencia en la columna de secado del equipo, y por otro lado, la naturaleza hidrosoluble de las antocianinas favorece su adherencia en el material pared, disminuyendo la posibilidad de fuga y posible adherencia en las paredes de la columna, antes mencionada.

### 7.2.2 Humedad

El contenido de humedad de un producto microencapsulado juega un papel muy importante en la determinación de fluidez, adherencia y estabilidad de almacenamiento; debido a su efecto sobre la transición vítrea y el comportamiento de cristalización (Shrestha et al., 2007). En la **Tabla 9**, se encuentra el ANDEVA con su respectivo  $R^2$  (0.845), con una P estadísticamente significativa, es decir, que el modelo se puede utilizar para determinar la variabilidad del contenido de humedad. En la **Tabla 10**, se muestra que esta variable está determinada en su forma lineal por el porcentaje de sólidos, mientras que en su forma cuadrática está determinada por ambos factores (temperatura de entrada y porcentaje de almidón).

**Tabla 9.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del porcentaje de humedad del ME

Respuestas	$R^2$	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
Humedad (%)	0.8453	14.79	36.06	< 0.0001	< 0.0001

**Tabla 10.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de humedad (%).

Respuesta	Intercepto	Lineales	Interacción	Cuadráticos
-----------	------------	----------	-------------	-------------



	<b>b<sub>0</sub></b>	<b>b<sub>1</sub></b>	<b>b<sub>2</sub></b>	<b>b<sub>12</sub></b>	<b>b<sub>11</sub></b>	<b>b<sub>22</sub></b>
Humedad	5.15	-0.31	-1.13	0.96	2.59	2.23
	(< 0.0001)	(0.2149)	(< 0.0001)	(0.0091)	(< 0.0001)	(< 0.0001)

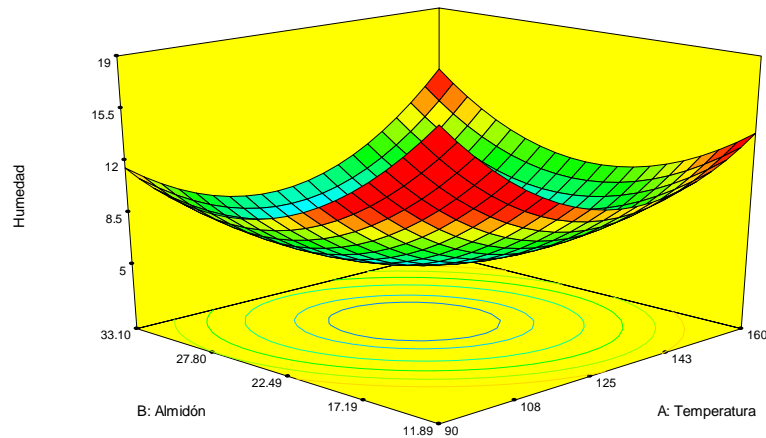
b<sub>1</sub> = Temperatura de secado (°C) y b<sub>2</sub>= concentración de sólidos (%)

En la **Figura 13** muestra qué a una temperatura cercana a los 125 °C, con un porcentaje de sólidos cercano al 33% se obtuvo el menor contenido de humedad (5%). Comportamiento similar en relación a la concentración de sólidos fue reportado por Ahkhavan (2016) en la encapsulación de antocianinas de extracto de agracejo (*Berberis vulgaris*), que tuvo el menor contenido de humedad (4.07%), influenciado estadísticamente por el porcentaje de sólidos, siendo la combinación maltodextrina (MD) con gelatina mejor que la combinación de MD con goma arábica (GA); el efecto se atribuyó a la estructura química de la goma arábica que en conjunto con la maltodextrina, presentan ramificaciones con grupos hidrófilos que contienen cadenas más cortas y grupos más hidrófilos y, por lo tanto, pueden unirse más fácilmente a las moléculas de agua del aire ambiental durante el proceso de secado (Akhavan Mahdavi et al., 2016)

El comportamiento en relación con la temperatura de entrada fue similar a lo publicado en la encapsulación de jaboticaba, a una temperatura de entrada de 180 °C con 30% de maltodextrina, en el que se obtuvo el menor contenido de humedad (2.1%). La disminución del contenido de humedad fue atribuido a que durante el proceso se alcanzó un gradiente de temperatura suficientemente elevado durante el secado, que permitió que el polvo no presentará moléculas de agua en la superficie del sistema (Silva et al., 2013).

La disminución del contenido de humedad está relacionada directamente con la concentración de sólidos en el sistema encapsulado, que disminuyen la retención de moléculas de agua en el sistema; así como se ve influenciado por la temperatura de entrada que favorece la evaporación de moléculas de agua en el polvo obtenido.

Design-Expert® Software  
 Humedad  
 12.9  
 4.6  
 X1 = A: Temperatura  
 X2 = B: Almidón



**Figura 13.** Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre la humedad (%) de ME.

### 7.2.3 Actividad de Agua ( $a_w$ )

En el proceso de microencapsulación por secado por aspersión, algunos parámetros físicos y morfológicos, como el bajo contenido de humedad y  $a_w$ , son esenciales para la estabilidad de los polvos (Mahdavi et al., 2014). En la **Tabla 11** se muestra el ANDEVA con su respectivo  $R^2$  (0.828), se puede ver que la P fue estadísticamente significativa, es decir, que el modelo se puede aplicar para determinar la variabilidad de la variable  $a_w$ , a continuación, en la **Tabla 12**, se muestra que cómo la variable está determinada por el efecto lineal y cuadrático de la concentración de sólidos, independiente de la temperatura de entrada. En la **Figura 14** se puede observar que el rango de  $a_w$  fue de 0.211 a 0.234, que está dentro del límite recomendado ( $<0.3$ ) que garantiza la estabilidad del sistema (Tonon et al., 2009); la menor  $a_w$ , se obtuvo con un porcentaje de sólidos de 22 a 27%, independientemente de la temperatura de entrada.

**Tabla 11.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas de la  $a_w$  del ME

Respuestas	$R^2$	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
------------	-------	----------	---------	-----------------	-----------------

$a_w$	0.8285	1.32	31.39	< 0.0001	< 0.0001
-------	--------	------	-------	----------	----------

$a_w$  = Actividad de agua

**Tabla 12.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de  $a_w$  (%).

Respuesta	Intercepto	Lineales		Interacción	Cuadráticos	
	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_{12}$	$b_{11}$	$b_{22}$
$a_w$	0.21 (< 0.0001)	1.073E-003 (0.0727)	4.712E-003 (< 0.0001)	3.500E-003 (0.0002)	2.250E-004 (0.7193)	5.225E-003 (< 0.0001)

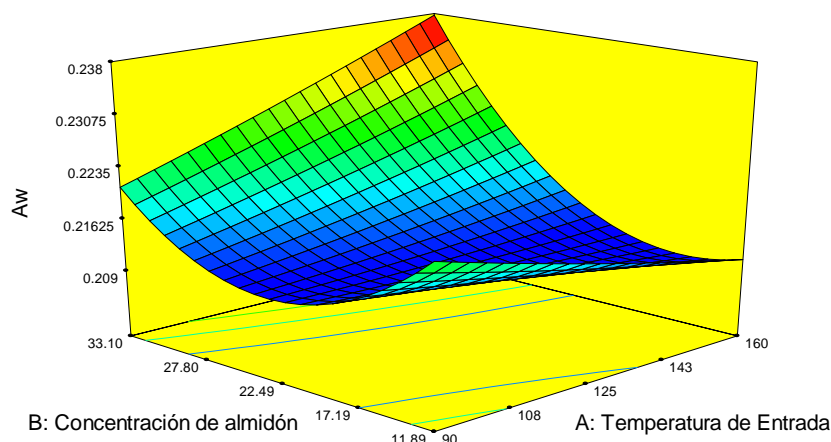
$a_w$ = Actividad de agua;  $b_1$  = Temperatura de secado ( $^{\circ}$ C) y  $b_2$ = concentración de sólidos (%)

Design-Expert® Software

$A_w$



X1 = A: Temperatura de Entrada  
X2 = B: Concentración de almidón



**Figura 14.** Efecto de la temperatura de secado ( $^{\circ}$ C) y concentración de almidón (%) sobre  $a_w$  (%) de ME.

Comportamientos similares fueron obtenidos en la encapsulación de antocianinas de arroz morado, utilizando almidón de arroz modificado como material pared; en dónde el porcentaje de sólidos contribuyó a tener una menor  $a_w$ , sin embargo, este parámetro no fue estadísticamente significativo cómo sí fue el cambio en la presión de proceso, aunado a ello, la estabilidad del microencapsulado tuvo una correlación negativa al incremento de la variable evaluada (Das et al., 2019). Por otro lado, la encapsulación de antocianinas de arándano, utilizando MD y almidón de maíz modificado en las proporciones similares a esta investigación, sí presentó baja  $a_w$  (0.16 a 0.27), otorgando esta comportamiento al contenido de sólidos en el modelo propuesto (Righi da Rosa et al., 2019). Del mismo modo, el

comportamiento publicado en la encapsulación de extracto de Gac (*Momordica cochinchinensis*), rico en carotenoides y antioxidantes, en el que los factores de temperatura y velocidad no influenciaron, mientras que el contenido de sólidos sí, con un rango de  $a_w$  de 0.38 a 0.54, disminuyendo a medida que la concentración de maltodextrina incrementaba; independientemente de la temperatura de entrada que osciló de 145 a 150 °C (Kha et al., 2010).

Se observaron diferentes resultados en la encapsulación de antocianinas de extractos de mashua morada utilizando almidón modificado de oca; en este estudio se reportó una temperatura de entrada alta (160 °C) y un bajo porcentaje de sólidos (2,5%), obtuvo una  $a_w$  reducida del polvo de 0.27 a 0.44. Las diferencias se atribuyen principalmente a las características estructurales del material pared, como se puede ver, al utilizar almidón modificado, éste le otorga un comportamiento diferente al ser sometido a cierta temperatura de entrada, así mismo, se ve influenciado por las condiciones en el proceso de secado y por último a la composición y estructura del compuesto activo (Velásquez-Barreto & Sánchez, 2022).

#### 7.2.4 Contenido de compuestos activos: compuestos fenólicos y antocianinas totales

En la **Tabla 13** se presenta el resultado de la ANDEVA que determinó el resultado en el contenido de compuestos activos (compuestos fenólicos y antocianinas totales), en el que el  $R^2$  fue de 0.958 y 0.963, respectivamente, ambos compuestos presentaron el mismo comportamiento ante los factores de temperatura de entrada y porcentaje de sólidos; mientras tanto en la **Tabla 14**, se observa cómo la variabilidad es estadísticamente significativa en su forma lineal para los ambos factores (temperatura de entrada y concentración de sólidos), mientras que para la forma cuadrática únicamente fue significativa para la temperatura de entrada.

Respuestas	$R^2$	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
<b>Fenoles</b> (mg EAG/g)	0.9578	5.35	149.74	< 0.0001	< 0.0001

<b>Antocianinas</b> (mg EC-3-G/g)	0.9637	4.86	175.24	< 0.0001	< 0.0001
-----------------------------------	--------	------	--------	----------	----------

**Tabla 13.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las respuestas del contenido de compuestos fenólicos y antocianinas totales del ME

EAG= Equivalentes de ácido gálico; EC-3G= Equivalentes de cianidina-3-glucósido

**Tabla 14.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta del contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100g).

Respuesta	Intercepto	Lineales		Interacción	Cuadráticos	
	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_{12}$	$b_{11}$	$b_{22}$
Compuestos fenólicos (mg EAG/g)	767.68 ( $< 0.0001$ )	-43.01 ( $< 0.0001$ )	-194.61 ( $< 0.0001$ )	-1.63 (0.8840)	-83.89 ( $< 0.0001$ )	3.07 (0.7173)
Antocianinas (mg EC-3-G/g)	403.45 ( $< 0.0001$ )	-22.96 ( $< 0.0001$ )	-97.71 ( $< 0.0001$ )	2.50 (0.6353)	-46.77 ( $< 0.0001$ )	-2.24 (0.5761)

EAG= Equivalentes de ácido gálico; EC-3G= Equivalentes de cianidina-3-glucósido;  $b_1$  = Temperatura de secado ( $^{\circ}$ C) y  $b_2$ = concentración de sólidos (%)

En las **Figuras 15 y 16** se muestra cómo el rango de compuestos fenólicos y de antocianinas es de 428.26 a 1039.1 mg EAG/ mg y 223.7 a 537.7 mg EC-3-G/ mg, respectivamente. Con una temperatura de entrada de 108 hasta 143  $^{\circ}$ C y un contenido de almidón cercano al 18% tuvo mayor contenido de ambos compuestos. Se puede observar que cuando la temperatura de entrada sobrepasó los 143  $^{\circ}$ C y el porcentaje de sólidos fue menor al 12%, el contenido de compuestos presenta un comportamiento inverso; esta respuesta también se reportó en la encapsulación de antocianinas extraídas del salvado de arroz morado, utilizando almidón aglutinado de arroz como material pared; en dónde el contenido de antocianinas fue de 2.92 mg/L afectado significativamente por la temperatura de entrada que fue mejor cuando estuvo cercana a los 140  $^{\circ}$ C; mientras que el contenido de sólidos en un porcentaje cercano al 7% permitió el mayor contenido de compuestos activos; en este estudio sugieren que a mayor temperatura de entrada, hay un acelerada formación de secado que forma una costra o cobertura de forma acelerada, evitando la lixiviación y la penetración de calor en la estructura formada, otorgando mejor protección al compuesto activo (Das et al., 2019); asociado a ello se supone que la retención del material del núcleo depende significativamente de la viscosidad de la emulsión inicial, en la que para el aumento de la concentración de sólidos, hay un aumento de la viscosidad que puede resultar en un eventual agrietamiento de las partículas que aumenta la difusión de antocianinas desde el núcleo a la pared, por lo tanto, disminuye la eficiencia de encapsulación (Jafari et al., 2008).

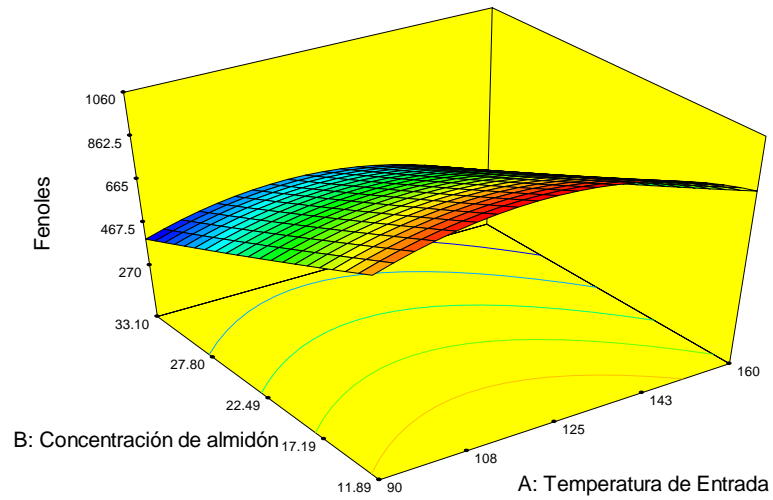
En el caso de compuestos fenólicos se presentó el mismo comportamiento en el MSR para la encapsulación de extracto de vainilla, utilizando almidón de arroz como material pared, con un efecto en término lineal y cuadrático en el contenido de compuestos activos determinados por la temperatura de entrada, con una concentración cercana al 14% y temperatura de cercana a 134 °C, obtenido hasta un 79% de EE (Ocampo-Salinas et al., 2020); así mismo para la encapsulación de extracto de mashua utilizando almidón modificado de oca, la mayor contenido de compuestos fenólicos fue a una concentración del 2% de sólidos, con una temperatura cercana a los 140 °C, se logró obtener hasta 4.17 mg EAG/g de polvo, el resultado en comparación con la encapsulación utilizando almidón en su forma nativa fue mayor, debido a que los compuestos activos como las antocianinas ingresaron a los gránulos modificados para unirse a ciertas cadenas de amilosa y amilopectina con grupos OSA, la baja proporción de encapsulado podría estar asociado con la formación de una capa superficial, que genera una costra superficial (almidón gelatinizado), que limita la migración de antocianinas desde la costra del polvo hacia la superficie (Velásquez-Barreto & Sánchez, 2022)

Por el contrario, en la encapsulación de extracto de antocianinas de papa morada, utilizando MD, el contenido de antocianinas estuvo explicado significativamente en su forma lineal tanto por la temperatura de entrada y el porcentaje de material pared, y en su forma cuadrática únicamente por el porcentaje de sólidos; esto puede deberse a las características del almidón, que alcanzó a secarse rápidamente y formar la cobertura suficiente, independiente de la temperatura a la que fue sometido durante el proceso (Vergara et al., 2020)

Design-Expert® Software

Fenoles  
1039.13  
428.261

X1 = A: Temperatura de Entrada  
X2 = B: Concentración de almidón

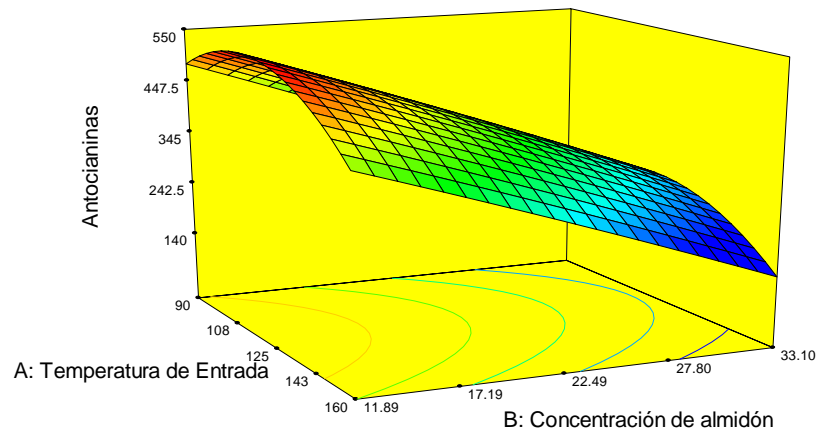


**Figura 15.** Efecto de la temperatura de secado ( $^{\circ}\text{C}$ ) y concentración de almidón (%) sobre el contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100 g) de ME

Design-Expert® Software

Antocianinas  
537.704  
223.765

X1 = A: Temperatura de Entrada  
X2 = B: Concentración de almidón



**Figura 16.** Efecto de la temperatura de secado ( $^{\circ}\text{C}$ ) y concentración de almidón (%) sobre la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) de ME



### 7.2.5 Actividad antioxidante: ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>

Mantener las propiedades antioxidantes de los compuestos bioactivos después del proceso de secado por aspersión es uno de los indicadores importantes de la eficiencia del proceso (Akbarbaglu et al., 2019).

En la **Tabla 15** se presenta el resultado de la ANDEVA que determinó el resultado en el porcentaje de inhibición de radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>, en el que el R<sup>2</sup> fue de 0.826 y 0.921, respectivamente, el porcentaje de inhibición para ABTS<sup>+</sup> fue estadísticamente significativo para la interacción y en la forma cuadrática de los factores de entrada, mientras que para el porcentaje de inhibición del radical DPPH<sup>+</sup> fue únicamente en la forma cuadrática de ambos factores como se muestra en la **Tabla 16**.

**Tabla 15.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) del modelo ajustado para las respuestas de ABTS<sup>+</sup> (% de inhibición) del ME

Respuestas	R <sup>2</sup>	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
ABTS <sup>+</sup> (% inhibición)	0.8269	5.98	31.52	< 0.0001	< 0.0001
DPPH <sup>+</sup> (% inhibición)	0.9217	6.72	77.69	< 0.0001	< 0.0001

**Tabla 16.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de ABTS<sup>+</sup> (% de inhibición).

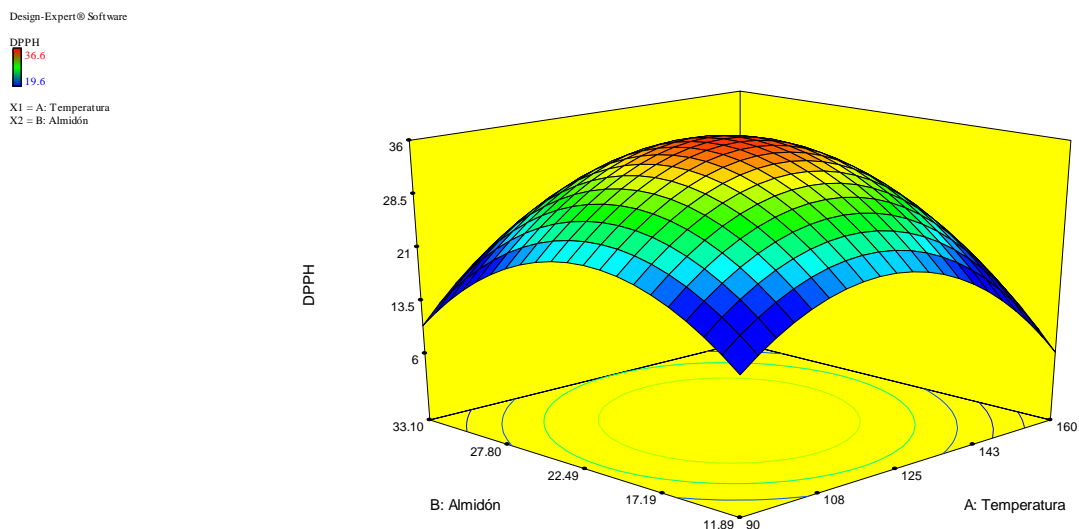
Respuesta	Intercepto		Lineales		Interacción		Cuadráticos	
	b <sub>0</sub>		b <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	b <sub>12</sub>	b <sub>11</sub>	b <sub>22</sub>	
ABTS <sup>+</sup> (% inhib)	42.26		0.43	0.55	3.32	-3.76	-4.49	
	(< 0.0001)		(0.3486)	0.2347	(< 0.0001)	(< 0.0001)	(< 0.0001)	
DPPH <sup>+</sup> (% inhibición)	35.81		-0.39	0.98	1.94	-6.27	-5.78	
	(< 0.0001)		(0.3238)	(0.0172)	(0.0013)	(< 0.0001)	(< 0.0001)	

b<sub>1</sub> = Temperatura de secado (°C) y b<sub>2</sub> = concentración de sólidos (%)

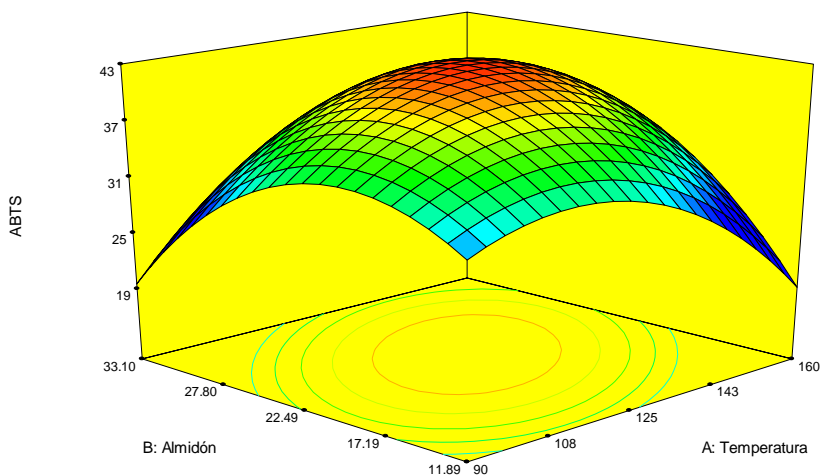
En la **Figura 17 y 18** se observa el rango del porcentaje de inhibición para DPPH<sup>+</sup> (36.6 a 19.6%) y ABTS<sup>+</sup> (42.8 a 28.2%), se muestra que para ambas variables una temperatura de

entrada cercana a los 125 °C y una concentración de sólidos cercana al 22%, dio como resultado un mayor porcentaje de inhibición de radicales.

De acuerdo a los resultados de diversas investigaciones, el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, está directamente relacionado con la actividad antioxidante del sistema, es decir, que a mayor contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, mayor será el porcentaje de inhibición de radicales (Cortés-Rojas et al., 2015), aunado a ello, diversos autores han coincidido que tanto la temperatura de entrada como el porcentaje de sólidos, determinará la actividad antioxidante, demostrada en el MSR (de Souza et al., 2015), ejemplo



**Figura 17.** Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre el porcentaje de inhibición de DPPH<sup>+</sup> de ME



**Figura 18.** Efecto de la temperatura de secado ( $^{\circ}\text{C}$ ) y concentración de almidón (%) sobre el porcentaje de inhibición de ABTS+ de ME

de ello es la encapsulación de antocianinas de arroz, utilizando almidón modificado de arroz, en el aumento mayor a  $140\text{ }^{\circ}\text{C}$  disminuyó el contenido de antocianinas, debido a la sensibilidad térmica de dichos compuestos; mientras que a mayor contenido de sólidos, incremento el contenido de dichos compuestos y de manera consecutiva incremento la actividad antioxidante para DPPH<sup>+</sup> hasta llegar al 52% de inhibición del radical (Das et al., 2019). Así mismo para la microencapsulación de extracto de ortiga (*Urtica dioica L.*) utilizando maltodextrina como material pared, la influencia de las variables independientes de temperatura de entrada y porcentaje de sólidos, tuvo como resultado la actividad antioxidante que oscilo de 24.7 a 78.8%, confirmando además que esta variable se correlacionó con el contenido de polifenoles, demostrando que a más de  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$  hay una disminución importante tanto de compuestos bioactivos, como de AA, esto debido a la vulnerabilidad del compuesto; este modelo mostró que la concentración de material pared afecta la actividad AA, debido a que la maltodextrina incrementa los solutos de la solución de alimentación por su alto peso molecular, lo que mejora la retención de compuestos fenólicos (Mousavi Kalajahi & Ghandiha, 2022)

### 7.2.6 Estabilidad: Retención de compuestos activos y de actividad antioxidante

En la **Tabla 17** se muestra el resultado de la ANDEVA del MSR, para determinar si la variable de estabilidad en cada uno de los tratamientos estaba influenciada por los factores independientes, para ello se tomó en cuenta el porcentaje de retención de los compuestos activos, actividad antioxidante, humedad y  $a_w$ , durante el tiempo de almacenamiento en condiciones de envejecimiento acelerado a 52.86% HR y 55 °C (para el diseño se tomó en cuenta únicamente la retención de antocianinas totales, aunque se evaluaron semanalmente todas las variables, se encuentran en el **Anexo 1**); el resultado de  $R^2$  fue de 0.869, con la significancia suficiente para incluir esta variable en el proceso de optimización, en la **Tabla 18**, se muestra que la interacción y el porcentaje de sólidos en forma lineal y cuadrática mostraron significancia estadística.

**Tabla 17.** Análisis de varianza y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo ajustado para las

Respuestas	$R^2$	C.V. (%)	Valor F	p de F (modelo)	Falta de ajuste
Antocianinas (%Eficiencia)	0.8692	11.12	43.85	< 0.0001	< 0.0001

respuestas de la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) del ME

**Tabla 18.** Coeficiente de regresión estimado del modelo ajustado y nivel de significancia para la respuesta de la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g).

Respuesta	Intercepto	Lineales		Interacción	Cuadráticos	
	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_{12}$	$b_{11}$	$b_{22}$
Antocianinas (% eficiencia)	36.04 (< 0.0001)	1.66 (0.0361)	-8.27 (< 0.0001)	9.22 (< 0.0001)	-3.85 (< 0.0001)	-0.34 (0.6789)

$b_1$  = Temperatura de secado (°C) y  $b_2$ = concentración de sólidos (%)

En la **Figura 19** se puede observar que el rango de retención del contenido de antocianinas oscilo de 14.1 a 53.8%, con un porcentaje de sólidos cercano al 11.89%, y una temperatura entre 90 y 125 °C. La inclusión de la variable de estabilidad permite tener un producto de que no sólo tenga un mayor contenido de compuestos activos y de actividad antioxidante,

también es importante tomar en cuenta la posibilidad de mejorar o mantener las concentraciones de dichos compuestos y actividad a pesar de las condiciones de almacenamiento.

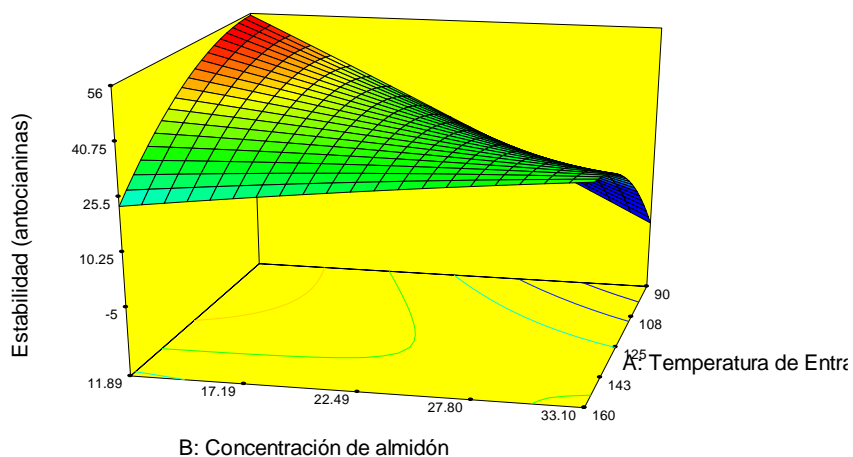
Design-Expert® Software

Estabilidad (antocianinas)



X1 = A: Temperatura de Entrada

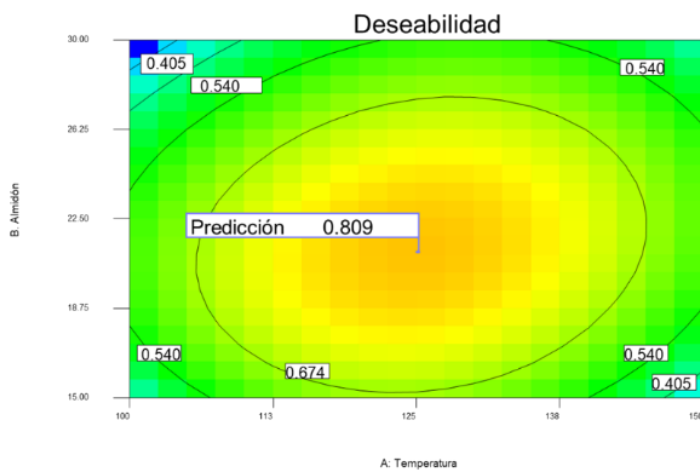
X2 = B: Concentración de almidón



**Figura 19.** Efecto de la temperatura de secado (°C) y concentración de almidón (%) sobre la concentración de antocianinas (mg EC-3-G/100 g) de ME

### 7.3 Optimización del proceso de secado para la microencapsulación del extracto de antocianinas (Fase III)

El proceso de optimización tiene como objetivo conocer el valor de los parámetros del secado para obtener un microencapsulado con una alta eficiencia de encapsulación, con correspondencia en la actividad antioxidante, alta retención de compuestos con actividad biológica y con características morfológicas y fisicoquímicas que le permitan ser una buena opción para ser incluidas en una matriz alimentaria y que cumpla de la mejor manera su función biológica (Yolmeh & Jafari, 2017). En la **Figura 20** se presenta el modelo gráfico que contiene la deseabilidad del modelo, calculando las mejores condiciones la deseabilidad alcanza un 80% (0.809), y en el gráfico se puede observar que la predicción del cumplimiento de las variables dependientes es a 125 °C de temperatura de entrada y 20.9% de almidón; la función de deseabilidad es una técnica estadística para determinar los niveles de las variables independientes que permiten la optimización simultánea de las variables de respuesta, transformando así las variables de respuesta en una medida única (Derringer & Suich, 1980). El procedimiento utilizado para la función de deseabilidad implicó los siguientes pasos: 1) encontrar los niveles de las variables independientes que produjeron las respuestas más deseables en las variables dependientes y 2) tener las respuestas más deseables en las variables dependientes.



**Figura 20.** Deseabilidad del Modelo de Superficie de Respuesta con el Diseño Compuesto Rotable

La función de deseabilidad tiene como función transformar cada respuesta estimada calculada por el ajuste del modelo asociado a cada ANDEVA factorial en un valor deseable; con la finalidad que en durante la réplica de las condiciones optimizadas en el proceso experimental se pueda alcanzar las respuestas mínimas y máximas deseadas para obtener un producto con las características más similares a los calculado por el modelo (Silva et al., 2013).

En la **Tabla 19**, se encuentran los parámetros predichos y el resultado basal del microencapsulado optimizado (ME-optimizado), se observa que en cada uno se cumple en más del 90%; resultados similares fueron publicados para la encapsulación de antocianinas de extracto de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), utilizando maltodextrina como material pared en el que se obtuvo una deseabilidad de 0.8 con 30% de concentración de sólidos a 180 °C de temperatura de entrada (Silva et al., 2013), así mismo en la encapsulación de antocianinas de salvado de arroz, usando almidón modificado, en el que la deseabilidad fue del 0.88; usando 6% de sólidos en la solución de alimentación a 168 °C de temperatura de entrada, para obtener más del 90% de eficiencia de encapsulación comparándola con la predicción (Das et al., 2019); efecto similar tuvo la encapsulación de extracto de cereza agria utilizando maltodextrina con diferentes equivalentes de dextrosa (DE), se obtuvieron dos productos optimizados a diferentes condiciones de secado para cada uno de los compuestos bioactivos, obteniendo hasta el 93% de eficiencia de encapsulación predicha (Elez Garofulic et al., 2017).

Parámetro	Predicción	Medición Basal ± DE	%
Rendimiento (%)	70.1	67.4 ± 0.53	96.1
Humedad (%)	5.48	5.2 ± 2.3	94.8
a <sub>w</sub>	0.211	0.201 ± 0.01	95.2
Compuestos fenólicos (mg EAG/g)	807.9	797.8 ± 2.1	98.7
Contenido de antocianinas (mg EC-3-G/g)	478.7	469.4 ± 1.9	98.0
Capacidad antioxidante (mg EAA/g)			
ABTS <sup>+</sup>	121.4	116.23 ± 0.33	95.7
DPPH <sup>+</sup>	108.4	104.4 ± 0.1	96.2
Retención del contenido de antocianinas (mg EC-3G/g)	158.9	157.7 ± 1.5	99.1

**Tabla 19.** Caracterización física y química de micropartículas obtenidas en condiciones óptimas

### 7.3.1 Caracterización morfológica del optimizado

#### 7.3.1.1 MEB

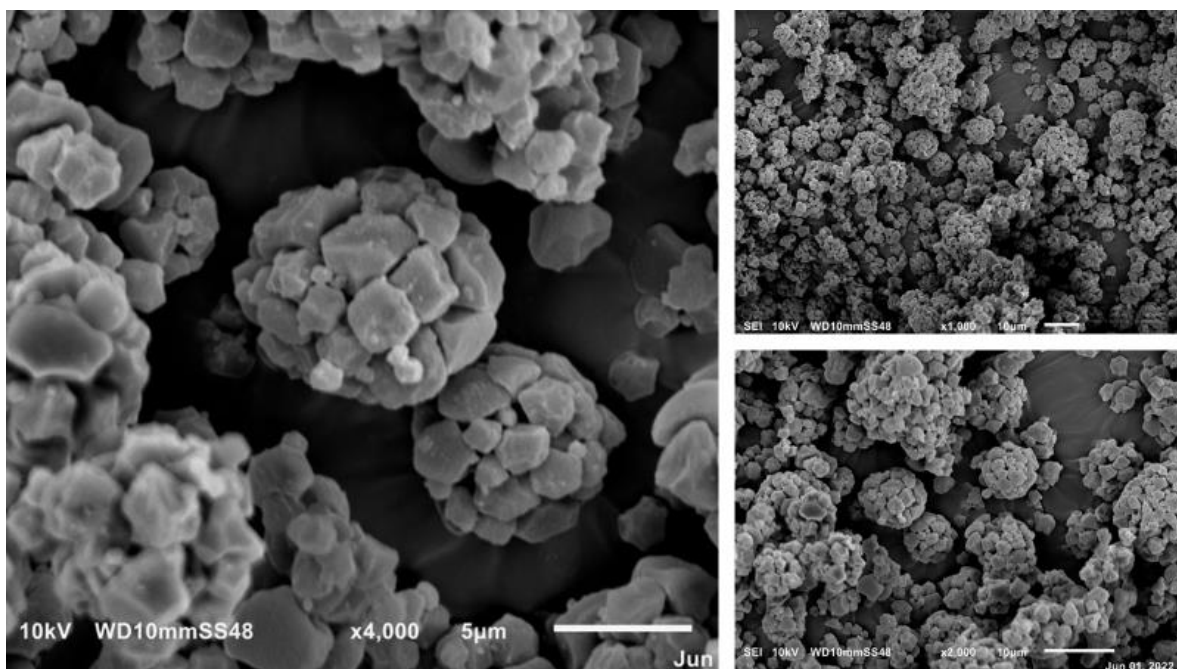
La **Figura 21** muestra las fotografías MEB y la distribución del tamaño de partícula del microencapsulado en condiciones óptimas; la morfología de la superficie muestra formas esféricas irregulares con cierta tendencia a la contracción y aglomeración; éstas superficies de formación que se encuentran en las partículas durante el proceso de secado por aspersión se atribuyen a la contracción de partículas que puede tener lugar a alta temperatura de entrada, sumado a ello, la formación de partículas durante el proceso de secado podría atribuirse a la agregación de gránulos de almidón de malanga inducida por la presencia de proteína en el almidón (Hoyos-Leyva et al., 2018); una morfología similar se observó en partículas de antocianina extraídas de *Garcinia indica* utilizando maltodextrina como material pared

DE= Desviación estándar; EAG= Equivalentes de ácido gálico; EC-3G= Equivalentes de cianidina-3-glucósido;

EAA= Equivalentes de ácido ascórbico



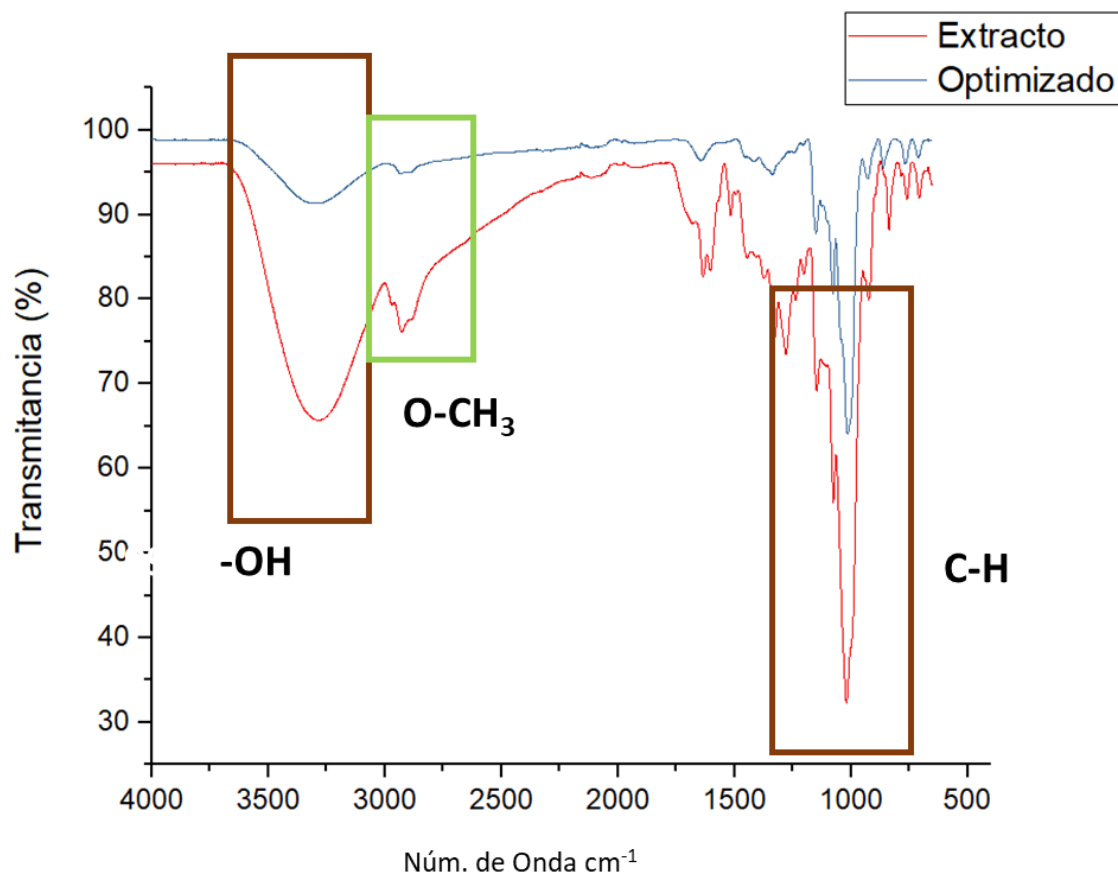
morada, utilizando almidón modificado de papa (Vergara et al., 2020) y en la microencapsulación de antocianinas extraídas de pétalos de *Echium amoenum* (Mehran et al., 2020).



**Figura 21.** Imágenes de MEB de extracto de antocianinas microencapsuladas (optimizadas) a x4000, x1000 y x2000

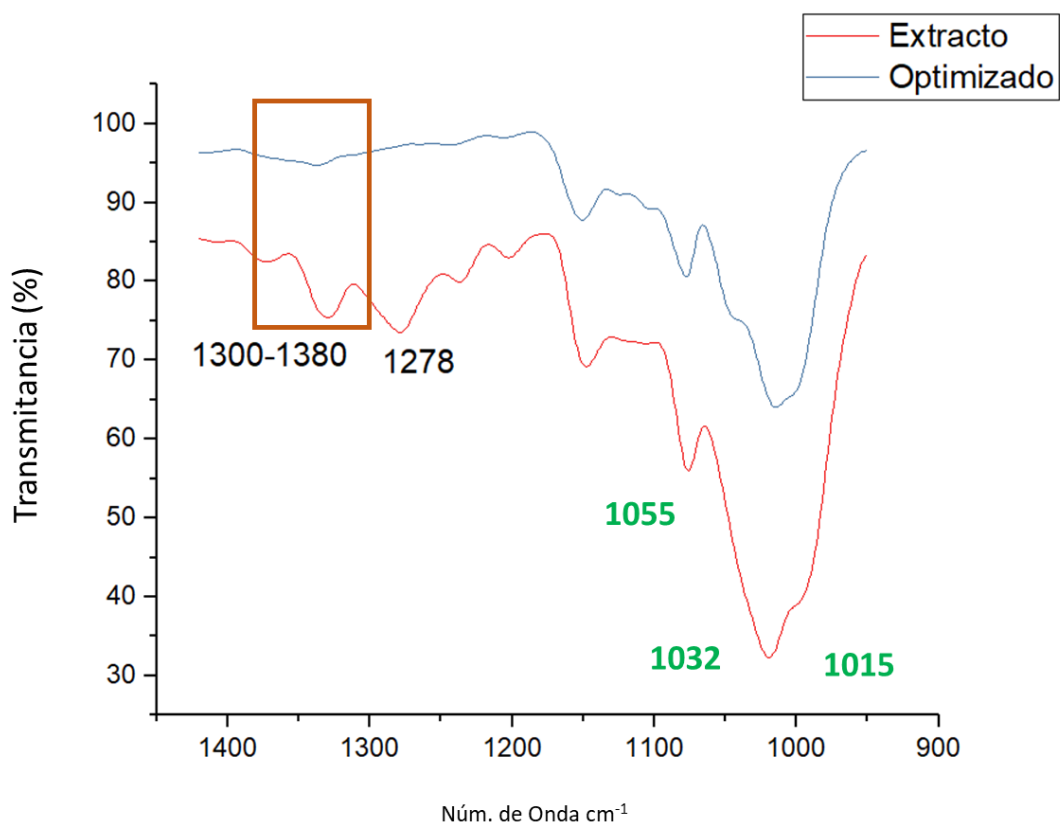
### 7.3.1.2 FTIR Extracto-ME optimizado

En la **Figura 22**, se muestra el espectro FTIR comparativo de las antocianinas con el ME optimizado, se puede observar que los grupos OH, así como las bandas correspondientes a los anillos pirano y aromáticos se encuentran disminuidos, esto quiere decir que el material pared está reteniendo de forma química al extracto



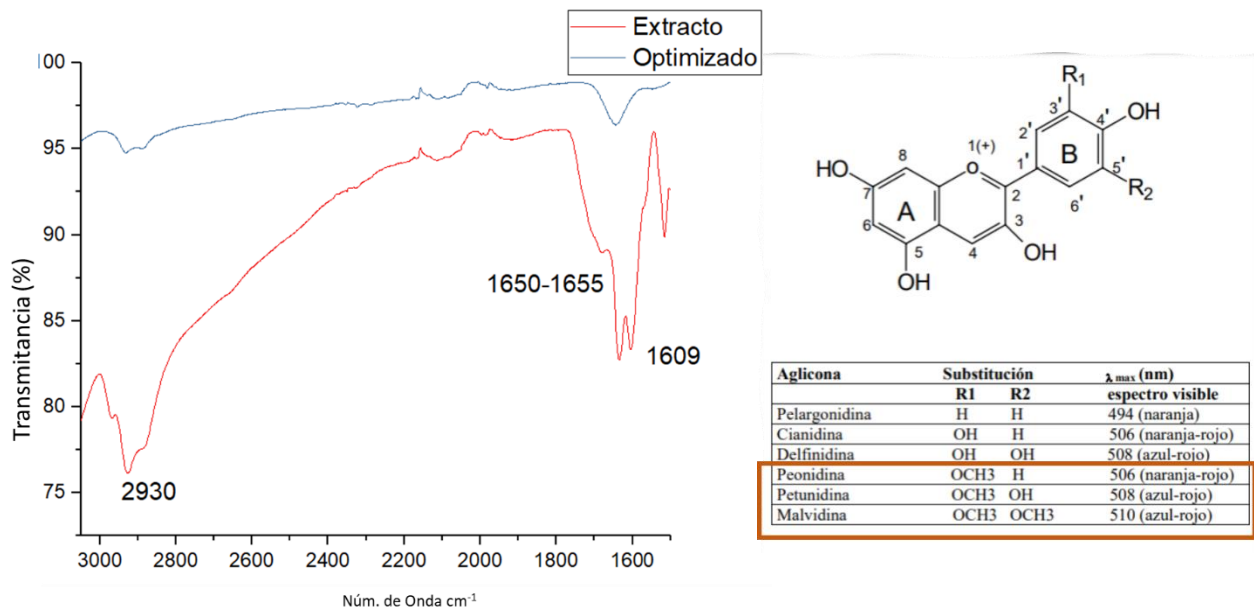
**Figura 22.** Espectro FTIR, extracto de antocianinas vs ME-optimizado

Al hacer un acercamiento a la estructura (**Figura 23**) se puede observar que hay una modificación en las bandas 1300-1380, que corresponden a la deformación angular de compuestos fenólicos (Das et al., 2019; Pereira et al., 2015). Por otro lado, en la banda 1055 y 1032 se puede observar una modificación que corresponde a la flexión de enlace C-H; por último se observa que en la región 1015 hay una disminución, lo que corresponde a la deformación del anillo aromático (Wang et al., 2020).



**Figura 23.** Espectros FTIR, extracto con ME optimizado en los grupos correspondientes a compuestos fenólicos y anillos aromáticos

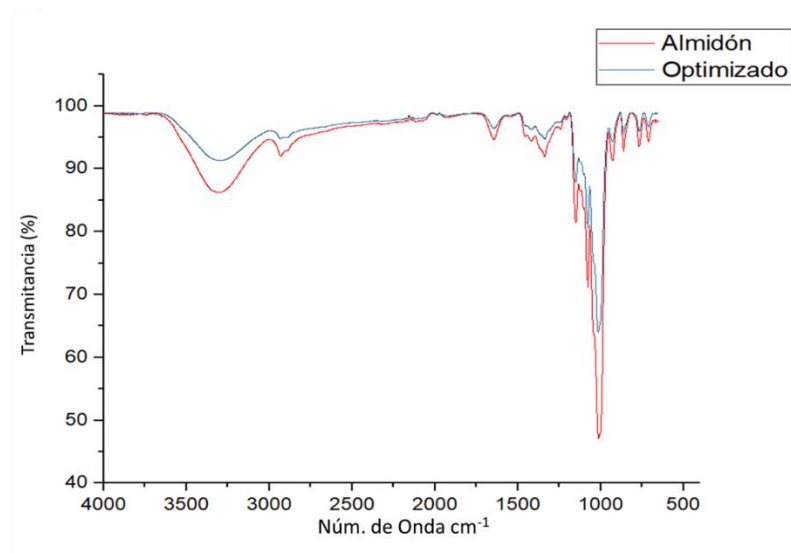
Se ha reportado en diversas investigaciones que los tubérculos contienen antocianinas aciladas en grupos OH de los glucósidos que se esterifican parcial o totalmente por varios ácidos orgánicos (Zhao et al., 2015), en el caso de extracto de antocianinas de origen en papas rojas se encuentra un complejo glucósido acilado de peonidina, petunidina y malvidina; en la **Figura 24** se puede observar la disminución de las señales que corresponden a los anillos piranos que caracterizan a estas antocianinas, en el número de onda 2900, banda 1650-1655 y 1609 (Miao et al., 2021)



**Figura 24.** FTIR correspondiente a la disminución de la señal de anillos pirano en el extracto vs ME optimizado

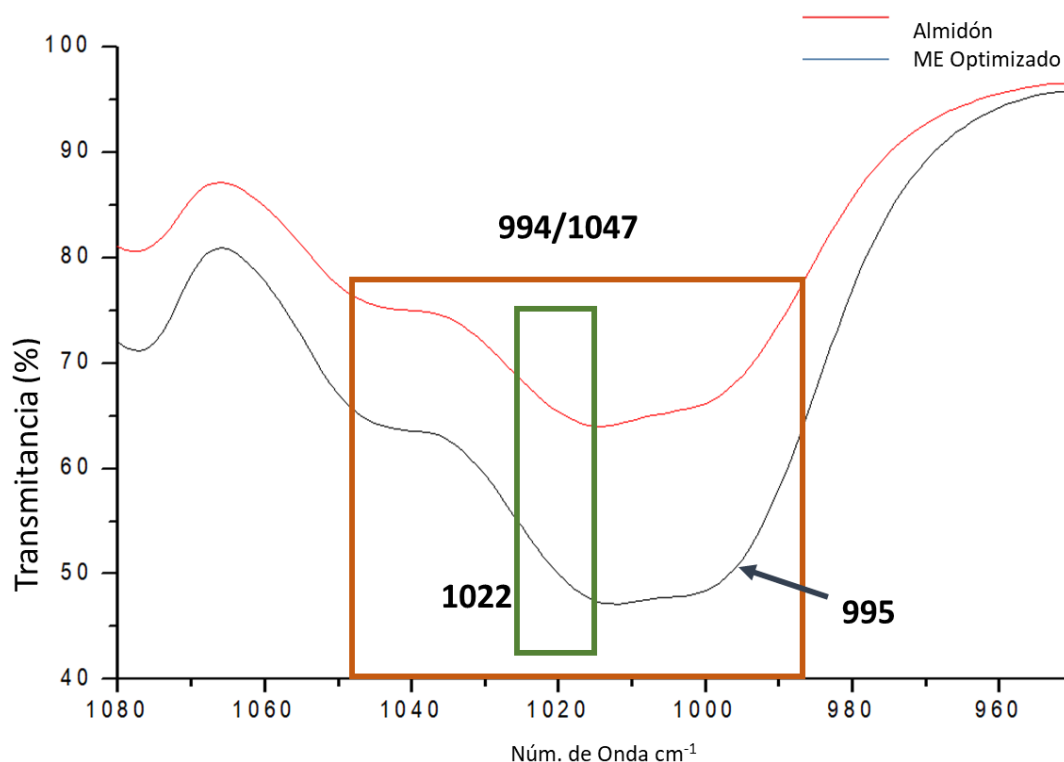
### 7.3.1.3 FTIR almidón nativo-ME optimizado

A continuación (**Figura 25**), se presenta el espectro que corresponde a la señal emitida por el almidón en su forma nativa y al ME-optimizado.



**Figura 25.** Espectro del almidón nativo de malanga vs ME-optimizado

La comparación de los espectros muestra bandas distintas que se consideran comúnmente para evaluar la estructura molecular de los biomateriales. La banda ancha en  $\sim 1080$  a  $950$   $\text{cm}^{-1}$  refleja el estiramiento C-O, C-C y CH y las vibraciones de flexión C-O-H de los grupos de los carbohidratos (Warren et al., 2016).



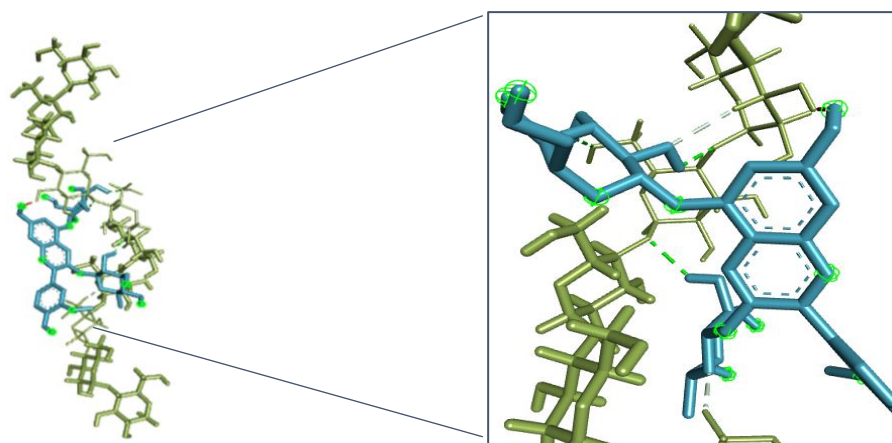
**Figura 26.** FTIR de región amorfa y cristalina del almidón nativo vs ME-optimizado

Esta amplia banda ha sido considerada como la huella dactilar de la estructura del almidón, encontrando que la banda cercana a  $1022$   $\text{cm}^{-1}$  incrementa para la región amorfa, mientras que las bandas cercanas  $995$  y  $1047$   $\text{cm}^{-1}$  son más prominentes en la región cristalina (Warren et al., 2016) como se muestra en la **Figura 26**.

Diversas investigaciones han planteado el interés en las interacciones entre polifenoles y almidón, lo que podría contribuir a modular la cinética de digestión de hidratos de carbono; estas interacciones está influenciado no sólo por la estructura del compuesto fenólico, sino también por la naturaleza del polímero y/o almidón, así como por las condiciones experimentales (Kaur et al., 2016; Zhu, 2015). A nivel molecular, las interacciones no covalentes entre compuestos fenólicos y el almidón pueden clasificarse en la formación de

complejos de inclusión y no inclusión, estos últimos con fuerza de unión más débil; los complejos de inclusión se lleva cabo a través de las cadenas lineales de amilosa que tienen la capacidad de interactuar con otros compuestos con un tamaño y estructuras específicas para formar complejos en forma de hélices denominadas amilosa tipo V (Igoumenidis et al., 2018). En consecuencia, estos complejos disminuyen la extensión de hinchamiento de los gránulos y pueden contribuir a formar una red de almidón más densa con acceso limitado a las enzimas, contribuyendo a la resistencia de la digestión del almidón (almidón resistente tipo 5) (Hasjim et al., 2013), se ha informado que las cadenas lineales de amilosa poseen una mayor capacidad de formación de complejos, a través de la ocupación de la cavidad interna de la estructura en espiral por interacción del almidón por enlace de H por medio de fuerzas de Vander Waals, la mayoría de los polifenoles forman complejos de inclusión al migrar a la región del interior del gránulo destruyendo el área cristalina o interactuado con el núcleo de la hélice de amilosa y amilopectina (Giuberti et al., 2020b). Por otro lado los complejos de no inclusión se llevan a cabo a través de las interacciones CH  $\pi$  no covalentes a lo largo de las cadenas glucosídicas  $\alpha$  1-4 (Takahama & Hirota, 2018).

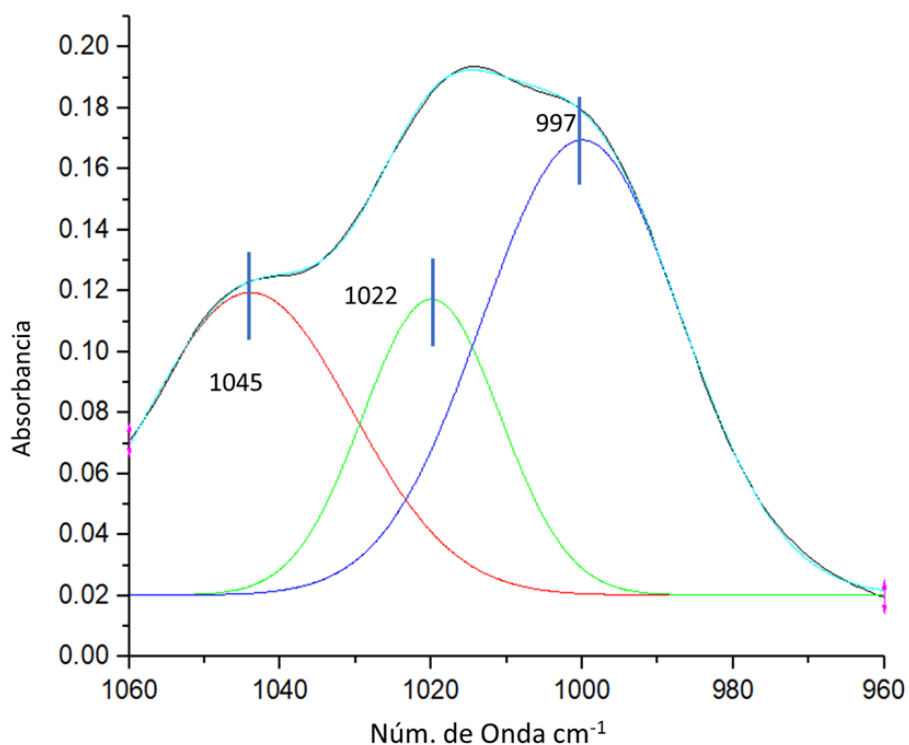
En función a ello, se propuso realizar un modelo basado en la estructura lineal del almidón y mostrar los posibles sitios de interacción entre esta estructura y las antocianinas, como se puede observar en la **Figura 27**.



**Figura 27.** Prototipo de interacción amilasa-antocianina

Se puede observar en la figura los enlaces por puente de H, interacciones que en teoría modificarían estructuralmente al almidón, teniendo efecto en la disminución de la digestión

de este, para corroborar este efecto, se realizó el análisis por FTIR del ME optimizado. La **Figura 28** ilustra la deconvolución de la banda de la huella dactilar del almidón con tres funciones básicas para agregados esféricos. El ajuste aceptable  $R^2= 0.999$  con los picos deconvolucionados ubicados en 1045, 1022 y 997  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden con los característicos para el almidón, con un ligero desplazamiento probablemente causado por la presencia de otros compuestos como aminoácidos.



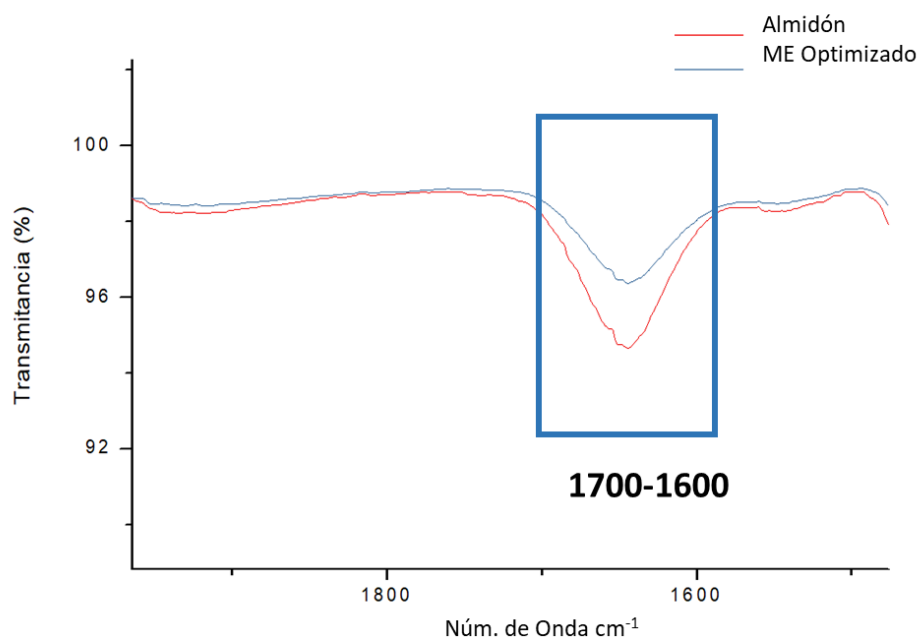
**Figura 28.** Deconvolución del almidón nativo vs ME-optimizado

La relación de intensidad 1047, 1022 y 997 se estimó a partir de los picos deconvolucionados como se presenta en la **Tabla 20**, como se puede observar la banda 1045 y 997 mostró una disminución importante, esto puede deberse a la modificación en la estructura que el compuesto activo está ocasionando en la forma nativa del almidón, esta disminución se traduce como la reducción del ordenamiento intrínseco (por ejemplo en la formación de doble hélice) de las cadenas de almidón, quizá por la acción de hidrólisis de la capacidad ácida del compuesto encapsulado, comportamiento observado en la microencapsulación de ácido ascórbico en almidón nativo de malanga (Hoyos-Leyva et al., 2018).

**Tabla 20.** Área de picos deconvolucionados del almidón nativo vs ME-optimizado

Pico (cm <sup>-1</sup> )	Almidón	ME-optimizado
	nativo	
	Área (%)	
1045	9.766±0.67	3.368±0.085
1022	1.373±0.28	2.213±0.155
997	8.069±0.51	4.946±0.122

Por otro lado, la banda ancha en 1700-1600 cm<sup>-1</sup> con un pico grande en ~1640 puede atribuirse al estiramiento C=O, vinculado con el grupo amida I. El proceso de secado por aspersión en presencia de las antocianinas interrumpió la estructura secundaria de la proteína como se muestra en la **Figura 29**.



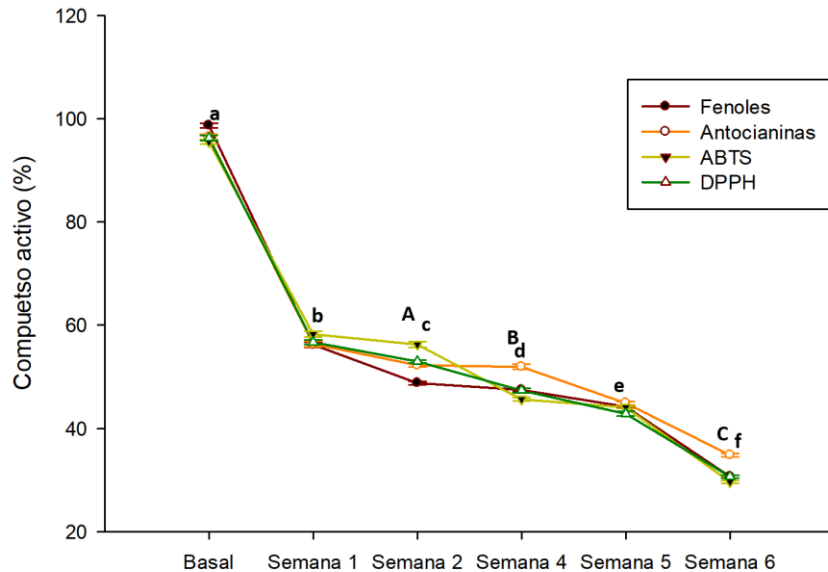
**Figura 29.** FTIR correspondiente a la región Amida I del almidón nativo vs ME-optimizado



### 7.3.2 Estabilidad del optimizado

En la **Figura 30** se muestra el comportamiento de la estabilidad de los compuestos activos (fenoles y antocianinas) y actividad antioxidante (inhibición de radical ABTS<sup>+</sup> y DDPH<sup>+</sup>) durante las 6 semanas de almacenamiento (en condiciones controladas de envejecimiento acelerado 52% HR y 55 °C), en forma de porcentaje de retención de estas variables, se calculó la diferencia en el porcentaje de retención por compuesto activo y por el mantenimiento de la inhibición de radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>; se aplicó ANDEVA de dos vías para evaluar la diferencia en la media de cada compuesto bioactivo por semana. El microencapsulado optimizado mostró diferencias significativas por cada compuesto durante cada semana, es decir, que sí bien siguen una tendencia similar, estadísticamente muestran diferencias en la retención de compuestos y actividad antioxidante.

Las microcápsulas mostraron una disminución importante en el contenido de compuestos bioactivos en la primera semana de evaluación, que transitó en promedio del 98% al 60%; esta pérdida puede deberse a la pérdida superficial de los compuestos, ya que ha sido reportado en la microencapsulación de ácido ascórbico usando malanga como material pared (Hoyos-Leyva et al., 2018; Palma-Rodriguez et al., 2013).



**Figura 30.** Retención de compuestos activos por semana de evaluación (envejecimiento acelerado)

Las letras en minúscula corresponden a las diferencias con significancia por compuesto activo, las letras en mayúsculas corresponden a las diferencias con significancia estadística por semanas de evaluación

Cerca del 60% de retención se mantuvo de la semana 1 hasta la 4, lo que indica que el almidón de malanga es su forma nativa tiene una capacidad protectora de aproximadamente 15 días en condiciones extremas de envejecimiento acelerado, se puede corroborar la protección con lo observado en las micrografías de la **Figura 21**, en dónde la aglomeración de los gránulos obstaculizan la tasa de transferencia de calor y humedad al centro de la capsula, lo que aumenta dicha capacidad de protección; este comportamiento fue similar a lo reportado en la encapsulación de antocianinas de pétalos de *Echium amoenum* utilizando maltodextrina y almidón de maíz modificado como material pared, el porcentaje de retención de antocianinas fue en promedio del 95% después de 15 días a 40 °C, se otorga la característica de retención a las características estructurales del almidón que ha demostrado tener efectos termoprotectores, sumado a la modificación por el grupo acetilo que se une a las cadenas de amilosa y amilopectina confiriéndoles propiedades emulsionantes a la molécula de almidón y proporcionan resistencia al agua, además que dicha modificación interfiere con el catión flavilium de las antocianinas impidiendo su transformación a una forma inestable (Mehran et al., 2020). En la estabilidad de oxidación de aceites de granada y de aguacate utilizando

almidón de malanga esterificado con OSA, fue sostenida por lo menos 3 semanas posteriores al proceso de secado, debido a la protección en procesos oxidativos que otorga el almidón (Cortez-Trejo et al., 2021; Romero-Hernandez et al., 2021).

La mayor pérdida de compuestos se observó hasta la semana 6, mostrando una reducción del 80% en compuestos bioactivos, lo que indica que las microcápsulas a base de almidón de malanga tienen una capacidad protectora de hasta 4 semanas; la retención mayor al 50% depende en gran medida de las características estructurales de las antocianinas ubicadas en la superficie de la estructura del polvo, su interacción con las condiciones ambientales como temperatura, luz, oxígeno y actividad enzimática, como se reportó en la encapsulación de antocianinas de jugo de maqui, utilizando inulina y alginato de sodio como material pared, que presentó una retención del compuesto a 160 días a 60 °C (Fredes, Osorio, et al., 2018).

Se realizó un modelaje matemático, para determinar la cinética de liberación que el microencapsulado optimizado presentó durante las condiciones de envejecimiento acelerado (evaluando la degradación de compuestos fenólicos, antocianinas e inhibición de radical ABTS<sup>+</sup> y DPPH<sup>+</sup>), para determinar el orden de reacción de un atributo de calidad, los datos experimentales obtenidos se ajustaron a una ecuación lineal, en la **Tabla 21** se presenta el resultado de la cinética de degradación por compuesto, la cual presentó un mayor ajuste a la ecuación cero con un R<sup>2</sup> de 0.905; esto significa que el comportamiento de degradación fue independiente de la concentración, lo que indica una degradación gradual del microencapsulado durante el almacenamiento (Idham et al., 2012); la degradación gradual también depende cómo se describió en el apartado de estabilidad de los procesos oxidativos que previene el material pared, cómo fue reportado durante la evaluación de la cinética de degradación de extracto de curcumina microencapsulada con almidón modificado y levadura *Saccharomyces Cerevisiae* (Paramera et al., 2011)

**Tabla 21.** Cinética de degradación por compuestos activos y actividad antioxidante

Compuesto	K	R <sup>2</sup>	K	R <sup>2</sup>
	Cero		Primer Orden	
Antocianinas	30.8	0.905	0.072	0.862

---

Compuestos fenólicos	33.2	0.896	0.081	0.848
ABTS <sup>+</sup>	10.9	0.834	0.085	0.907
DPPH <sup>+</sup>	10.7	0.802	0.082	0.894

---

### 7.3.3 Bioaccesibilidad del optimizado

La encapsulación y liberación controlada de biocomponentes aseguran el mantenimiento de las características nutritivas y sensoriales de los alimentos y prolongan el período de almacenamiento, los mecanismos de liberación dependen de muchos factores como el material encapsulante, el compuesto bioactivo, la morfología del encapsulado, las condiciones de liberación (pH, fuerza iónica, temperatura) y el método de preparación de las cápsulas (Maderuelo, Zarzuelo , & Lanao, 2011)

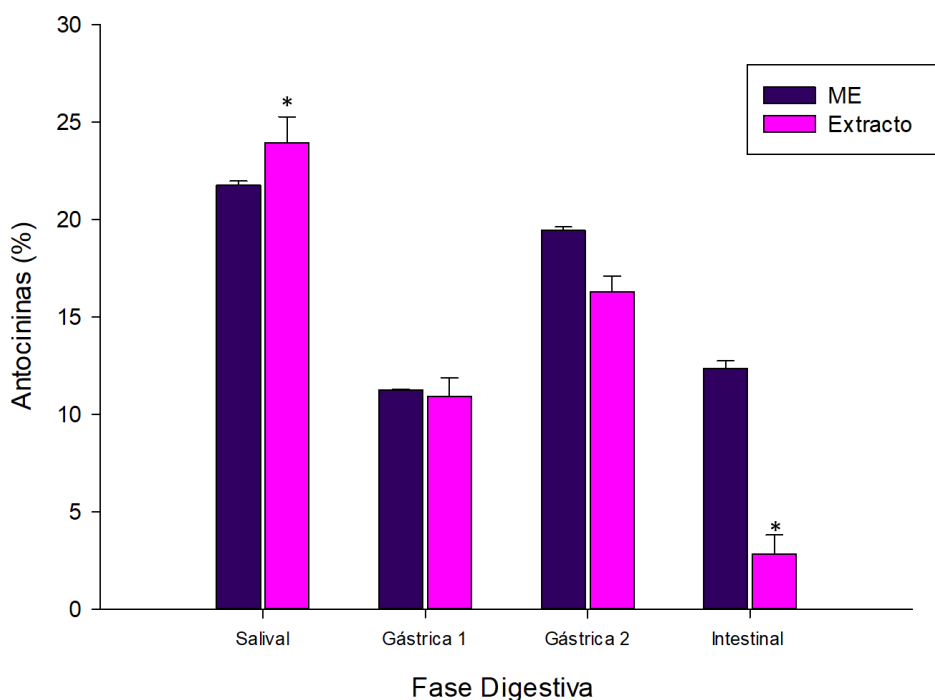
Se llevó a cabo la simulación del proceso digestivo para comparar la bioaccesibilidad del extracto sin encapsular versus el encapsulado optimizado (**Figura 31**). Para que se pueda liberar el compuesto activo de un sistema de protección como la microencapsulación deben suceder dos procesos de manera simultánea: proceso físico de rotura en partículas más pequeñas (desintegración) y procesos químicos en el que las moléculas se disuelven como resultados de los cambios físicos y químicos a los que son sometidos (disolución); estos procesos resultarán en cambios en los porcentajes de liberación en comparación con el extracto sin protección (Righi da Rosa et al., 2019); mientras tanto la bioaccesibilidad de las antocianinas está determinado por las modificaciones estructurales ocasionadas por el entorno fisiológico como los cambios en el pH y temperatura (Paramera et al., 2011), la interacción enzimática a las que están sujetas y al metabolismo xenobiótico de fase I (oxidación y reducción) y II (reacciones de conjugación con grupos metilo, ácido glucurónico y sulfato) en los enterocitos y hepatocitos (Cardona et al., 2013)

Como se observa en la **Figura 32**, el comportamiento de la bioaccesibilidad del extracto sin encapsular y el microencapsulado optimizado durante 6 semanas de evaluación. Durante la fase salival a los 5 minutos de digestión a un pH 6, el extracto sin encapsular tuvo una cuantificación del 24% y el microencapsulado optimizado una liberación del 22%; esta

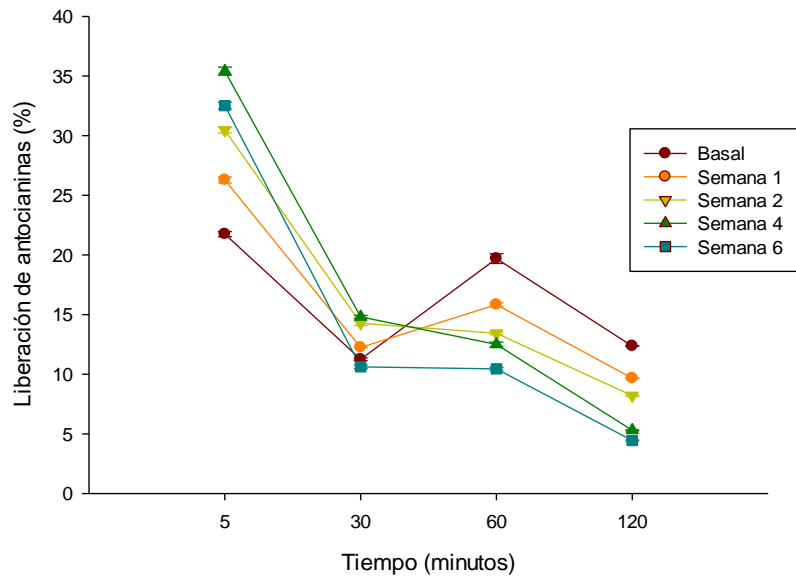
diferencia se debe al efecto de protección que pudiera estar otorgando el almidón como material pared (Righi da Rosa et al., 2019). Durante la primera fase estomacal a los 30 minutos a un pH 2, los valores de cuantificación y liberación de antocianinas fueron similares, observando ~10.94% en el extracto sin encapsular y para el microencapsulado optimizado de ~11.25%; en el caso del extracto, el incremento en la cuantificación está relacionado procesos de mayor estabilidad de las antocianinas a un pH bajo (Felgines et al., 2010), en el caso del encapsulado, intervienen procesos de desintegración y disolución del material pared que permiten la liberación controlada de las antocianinas (Podsędek et al., 2014). En la segunda fase estomacal a los 60 minutos manteniendo el pH 2, la cuantificación de antocianinas en el extracto sin encapsular y la liberación en el microencapsulado fue de 16.3% y 19.65%, respectivamente; la diferencia se debe a que las antocianinas sin encapsular presentaron cambios estructurales desde la fase inicial de digestión (Kubow et al., 2016), lo que provoca una disminución en la cuantificación de compuestos bioactivos ocasionadas por el entorno fisiológico como los cambios en el pH y temperatura (Paramera et al., 2011); por otro lado el microencapsulado presentó la liberación controlada y sostenida que incrementa la cuantificación de antocianinas, aunado a que las antocianinas liberadas a nivel estomacal son mucho más estables, debido a las condiciones del pH 2, como se mencionó anteriormente. Finalmente, durante la fase intestinal a un pH 7, el extracto sin encapsular mostró una cuantificación del 2.7%, mientras que el microencapsulado optimizado fue de 12.3%. Se puede observar que, para ambas condiciones, hay una disminución importante de antocianinas, esto se debe principalmente a que éste compuesto bioactivo al ser sometido a un pH cercano al neutral ocasiona cambios estructurales importantes que podría deberse a la transformación del catión flavilio en la pseudobase incolora de chalcona al pH intestinal (7), a la fisión entre los anillos B y C debido al incremento en la temperatura, así como la exposición prolongada del compuesto que resulta en la destrucción del cromóforo de la antocianina (Liang et al., 2012). Sin embargo, se observa que para esta fase gástrica la bioaccesibilidad de las antocianinas es estadísticamente superior al extracto sin encapsular; resultados similares fueron observados por (Vergara et al., 2020), en la encapsulación de antocianinas extraídas de papa moradas, encapsuladas en almidón modificado.

En la **Figura 33** se observa la bioaccesibilidad de las antocianinas evaluadas durante 6 semanas a condiciones ambientales, para describir los cambios semanales de la liberación,

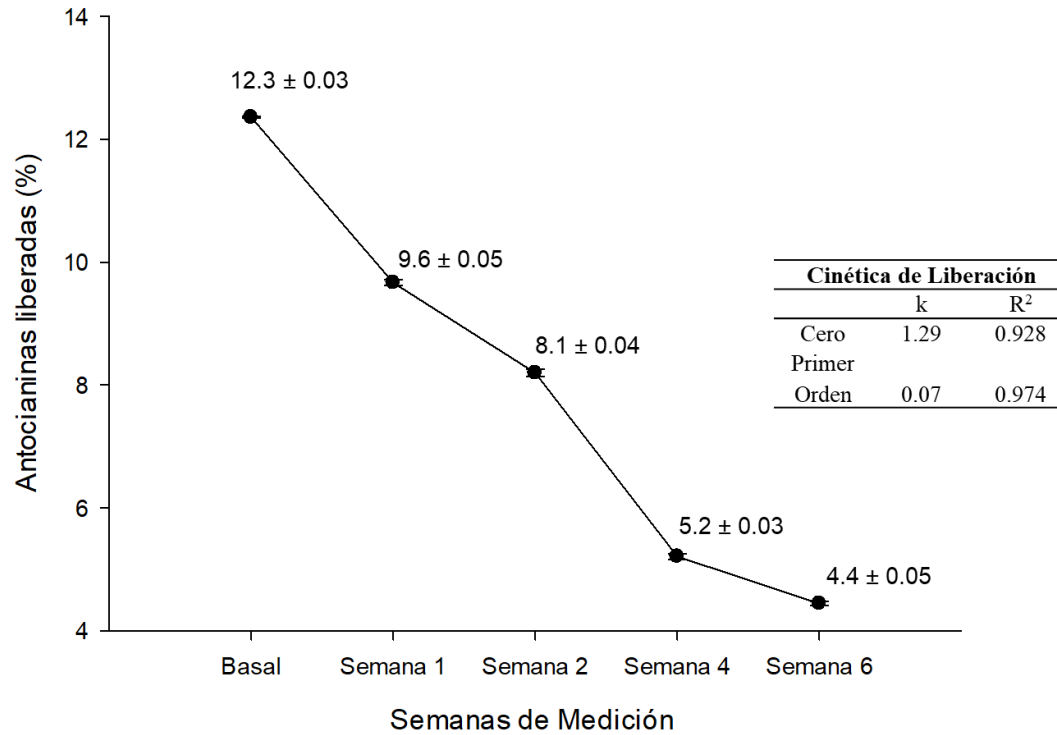
así como poder calcular la cinética de liberación; el estudio de los mecanismos de liberación se realiza sobre modelos matemáticos que explican los tipos de transporte de moléculas bioactivas a través de la pared de las microcápsulas (Siepmann & Peppas, 2001; Zou et al., 2015), se llevó a cabo el modelo de ecuación cero y de primer orden para describir el mecanismo de liberación del microencapsulado optimizado (Figura 33), y al que más se ajustó fue al modelo cinético de primer orden con un  $R^2$  de 0.97, esto quiere decir que el mecanismo de transporte de las antocianinas en el microencapsulado está controlado por su retención en el material pared que permite su liberación controlada y más lenta, lo que ocasiona una menor solubilidad en comparación al medio de liberación (Flores et al., 2016).



**Figura 31.** Bioaccesibilidad basal extracto vs microencapsulado optimizado



**Figura 32.** Bioaccesibilidad del microencapsulado optimizado por semana (6 semanas de evaluación)



**Figura 33.** Porcentaje de liberación semanal de antocianinas totales y cinética de liberación ajustada a dos modelos

### 7.3.4 Actividad enzimática

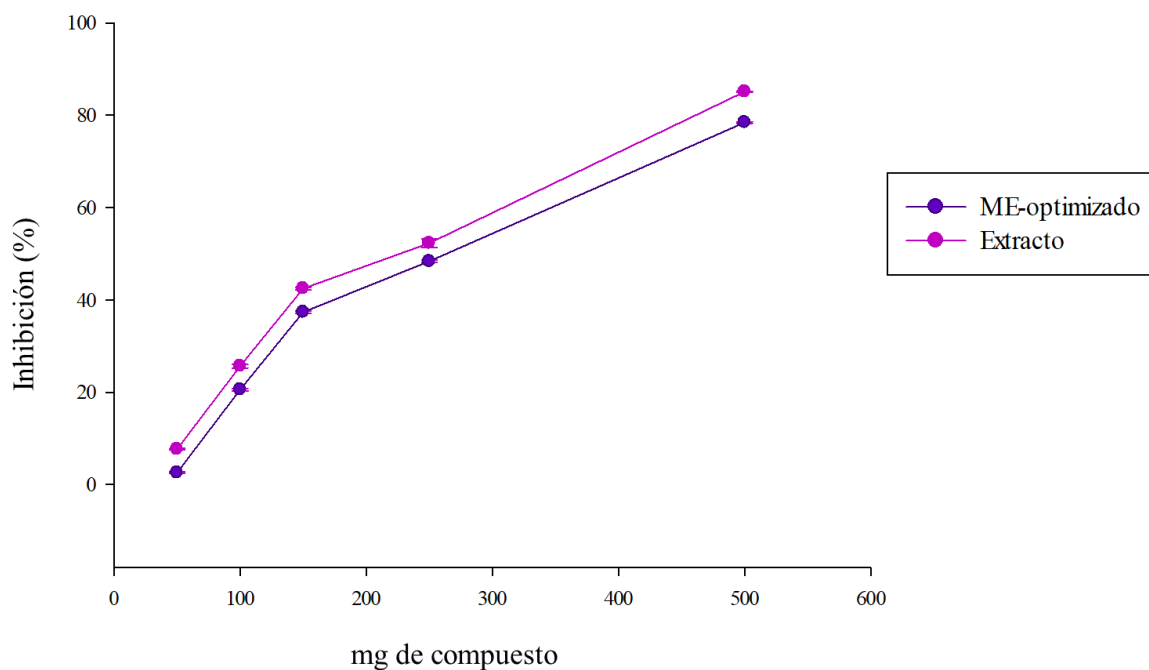
Actualmente, más de 600 estructura de antocianinas con los 6 núcleos de antocianidinas comunes son registrada en bases de datos cómo Pubchem, la diversidad estructural de las antocianinas es indicador del número tipo y posición de unión de los grupos acilo (Prior & Wu, 2006), se propuso emplear un enfoque sistemático como el diseño basado en la estructura para investigar el espacio químico de las antocianinas y la relación en la estructura y actividad de las antocianinas con su actividad inhibitoria; el diseño basado en la estructura es un enfoque comúnmente adoptado en búsqueda de nuevos inhibidores (Rasouli et al., 2017), este diseño combina métodos computacionales, métodos biofísicos y métodos *in vitro*

#### 7.3.4.1 Inhibición enzimática

Se realizó la curva de inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa de las antocianinas en forma libre y microencapsuladas. En la **Figura 34** se puede observar una correlación positiva de la



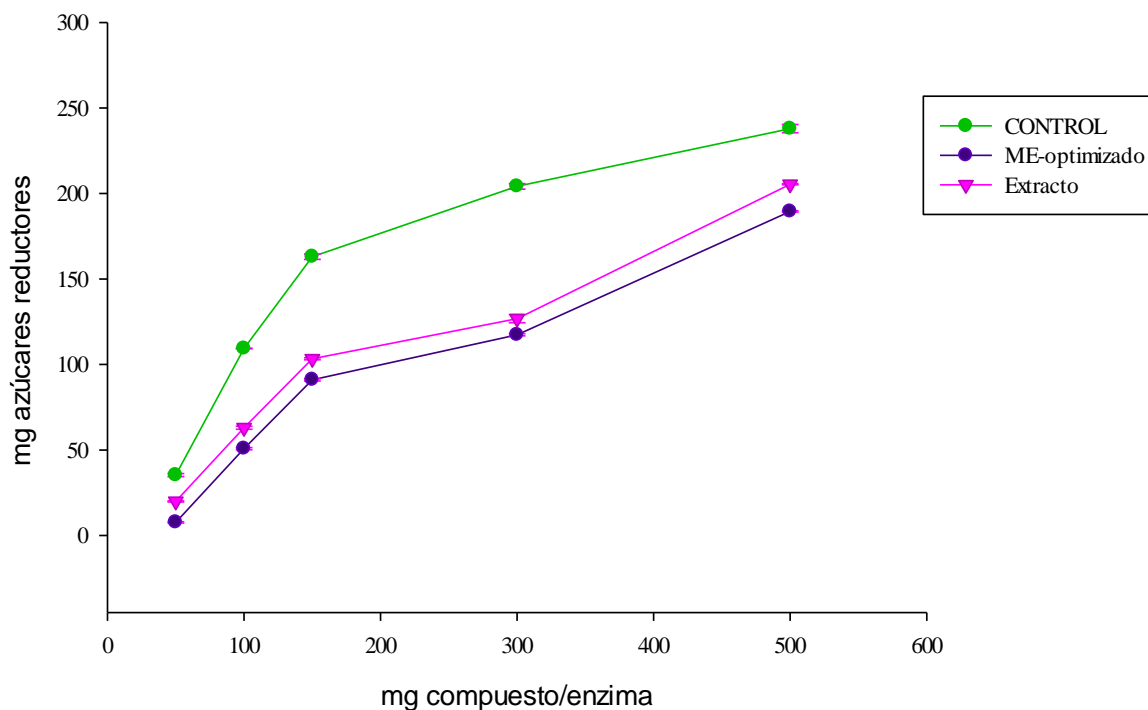
inhibición y la concentración de compuesto activo. el  $IC_{50}$  del ME-optimizado fue de 274.43 mg/mL, mientras que para el extracto fue de 256.31mg/mL, a pesar de no mostrar diferencias estadísticamente significativas, para alcanzar la concentración necesaria sería necesaria la ingesta de 3.8 g de ME-optimizado, mientras que de extracto sería de 13 mg/ ml lo que sí representa una diferencia estadísticamente significativa, así mismo en comparación con el fármaco de referencia el  $IC_{50}$  que fue de 57.2 mg/mL; este comportamiento fue similar a lo publicado para antocianinas aciladas (Armstrong et al., 2020; Dai et al., 2018; Wang et al., 2020), aunado a ello en comparación con antocianinas de origen de bayas, las antocianinas aciladas han demostrado mayor inhibición enzimática (Yang et al., 2021). La inhibición de antocianinas aciladas podría deberse al tipo de antocianidina que suele ser cianidina y peonidina, la actividad de inhibición podría estar correlacionada con la concentración de las fracciones aciladas como en el caso de la evaluación de inhibición enzimática en extractos de antocianinas de camote morado (Zhang et al., 2015).



**Figura 34.** Porcentaje de inhibición de antocianinas (extracto) y ME

### 7.3.4.2 Velocidad y cinética de inhibición

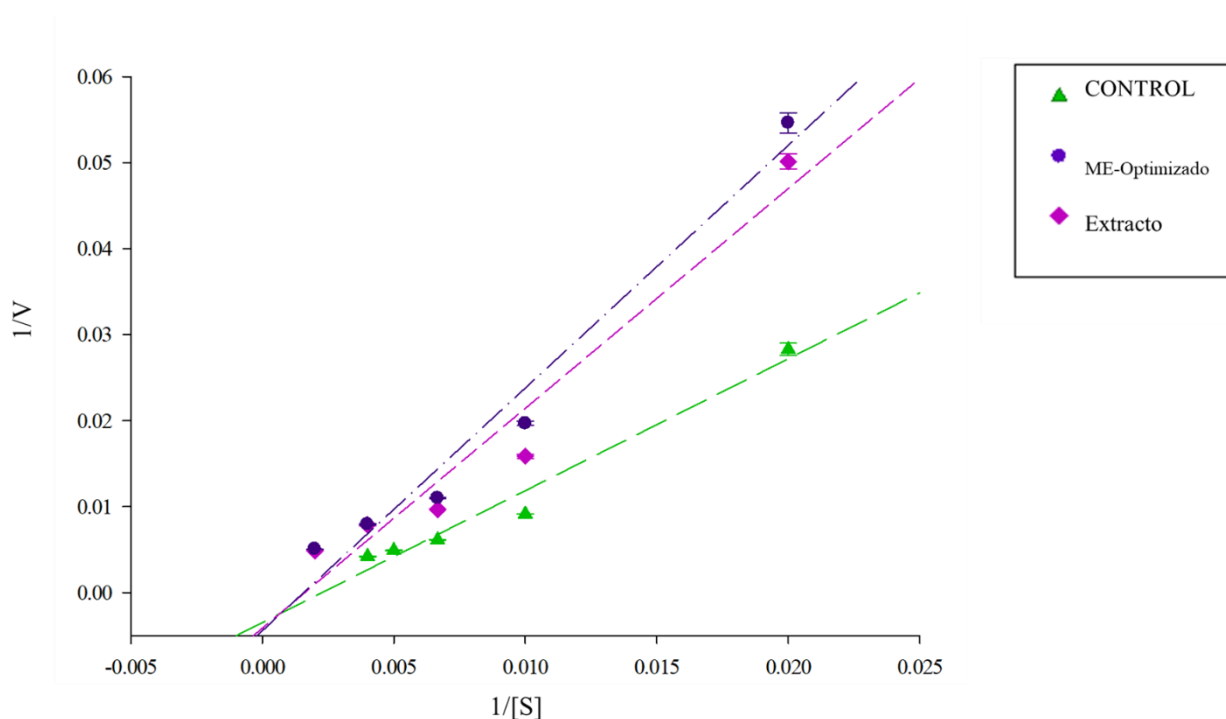
En la **Figura 35** se muestra la velocidad de reacción del extracto sin encapsular, del ME, en comparación con la velocidad control de la enzima, la actividad inhibitoria es el resultado final de las interacciones de unión entre el compuesto activo y los sitios de acción de la enzima (Giuberti et al., 2020a), en la figura se puede observar la correlación positiva de la inhibición y la concentración, comportamiento similar en antocianinas diaciladas obtenidas de papa morada de diversas regiones de China (Esatbeyoglu et al., 2017)



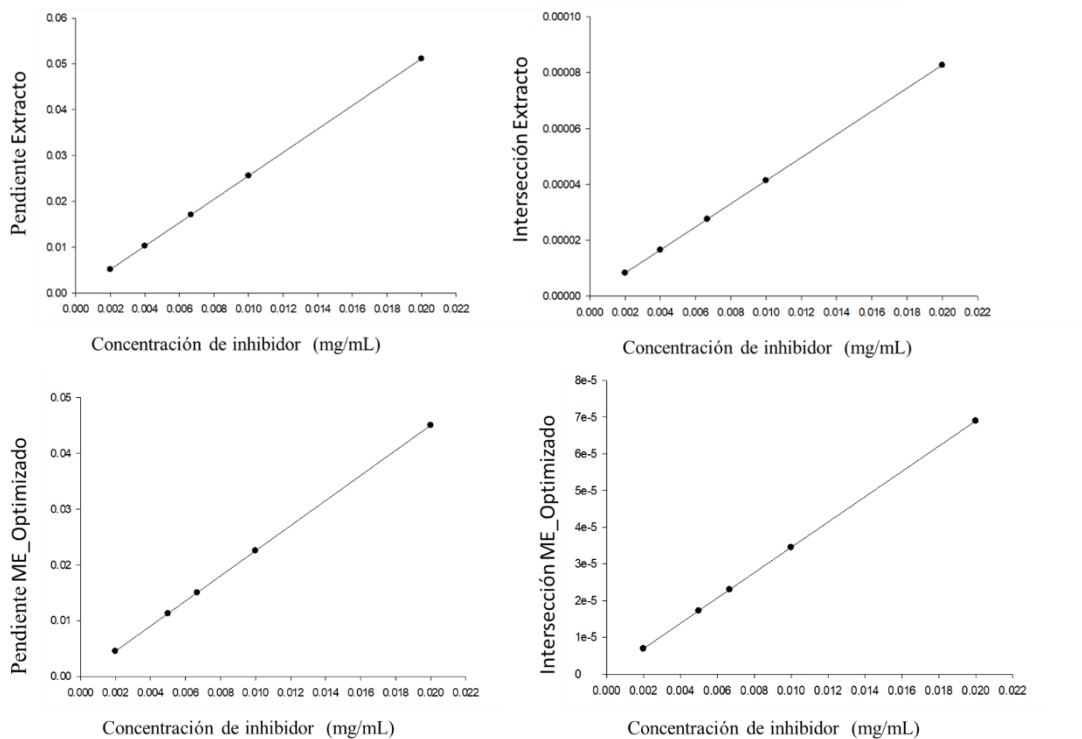
**Figura 35.** Velocidad de reacción extracto, ME-optimizado en comparación con la velocidad de la enzima amilasa

El tipo de inhibición de las antocianinas contra la  $\alpha$ -amilasa se analizó mediante ensayos cinéticos de inhibición y gráficos de Lineweaver-Burk, como se muestra en la **Figura 36**, se evaluó el mecanismo de inhibición mediante estos ensayos cinéticos en el que la concentración de antocianinas aciladas incrementaron el valor de  $K_m$ , mientras que disminuyó la  $V_{max}$ , ajustándose al segundo cuadrante, lo que indica que la inhibición de la enzima es de tipo mixto (Zheng et al., 2020), comportamiento similar observado en la inhibición de  $\alpha$ -amilasa con antocianinas aciladas de papa morada en comparación con antocianinas no aciladas de bayas de la región de China (Yang et al., 2021).

Los parámetros para la unión de antocianina con la enzima libre ( $K_i$ ) y con el complejo enzima-sustrato ( $K_{is}$ ) se obtuvieron de las gráficas secundarias (**Figura 37**). El valor  $K_i$  de ambos compuestos fue mayor al valor de  $K_{is}$  (**Tabla 22**), demostrando que el compuesto activo se une mejor a la enzima libre que al complejo enzima-sustrato, mismo comportamiento publicado por Yang et al. (2021).



**Figura 36.** Gráfica de Lineweaver-Burk extracto sin encapsular y ME optimizado contra  $\alpha$ -amilasa



**Figura 37.** Gráficas secundarias para la pendiente ( $K_i$ ) e intersección ( $K_{is}$ ) del extracto y del ME optimizado

**Tabla 22.** Efectos inhibitorios de las antocianinas en extracto y ME

Compuesto	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	V <sub>max</sub>	K <sub>m</sub>	K <sub>i</sub>	K <sub>is</sub>	Tipo de Inhibición
CONTROL		287.57	441.01			
Extracto	256.31	241.77	618.13	2.55	0.004	Mixto
ME-optimizado	274.43	225.38	636.26	2.25	0.003	Mixto
Acarbosa	52.21	102.76	4.32	0.04	0.009	Competitiva

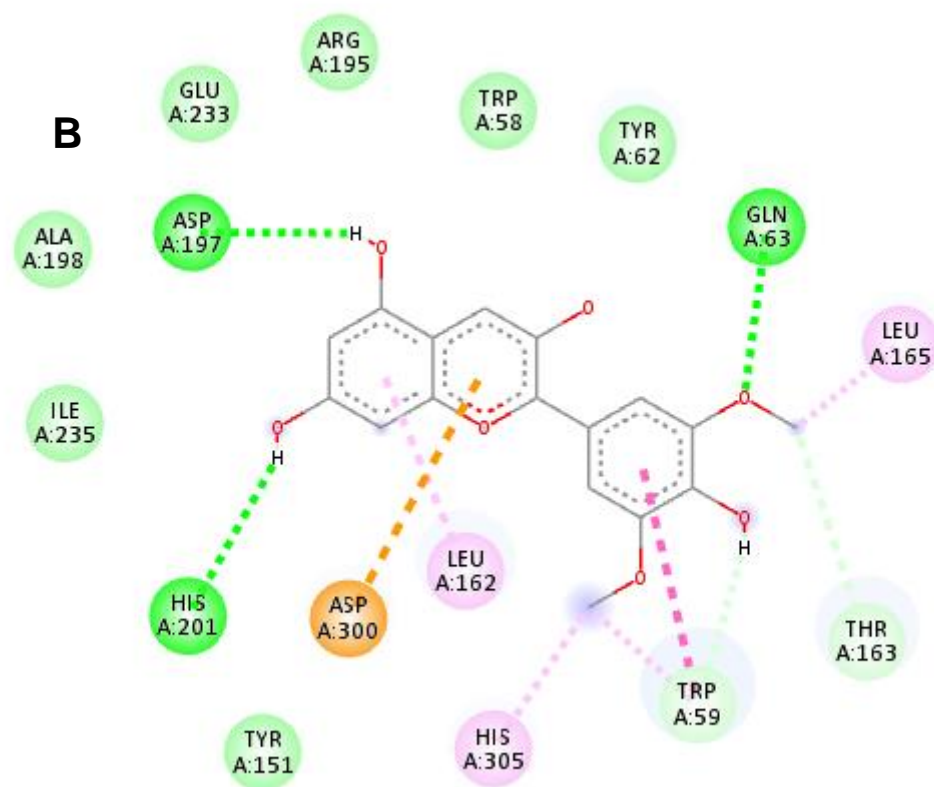
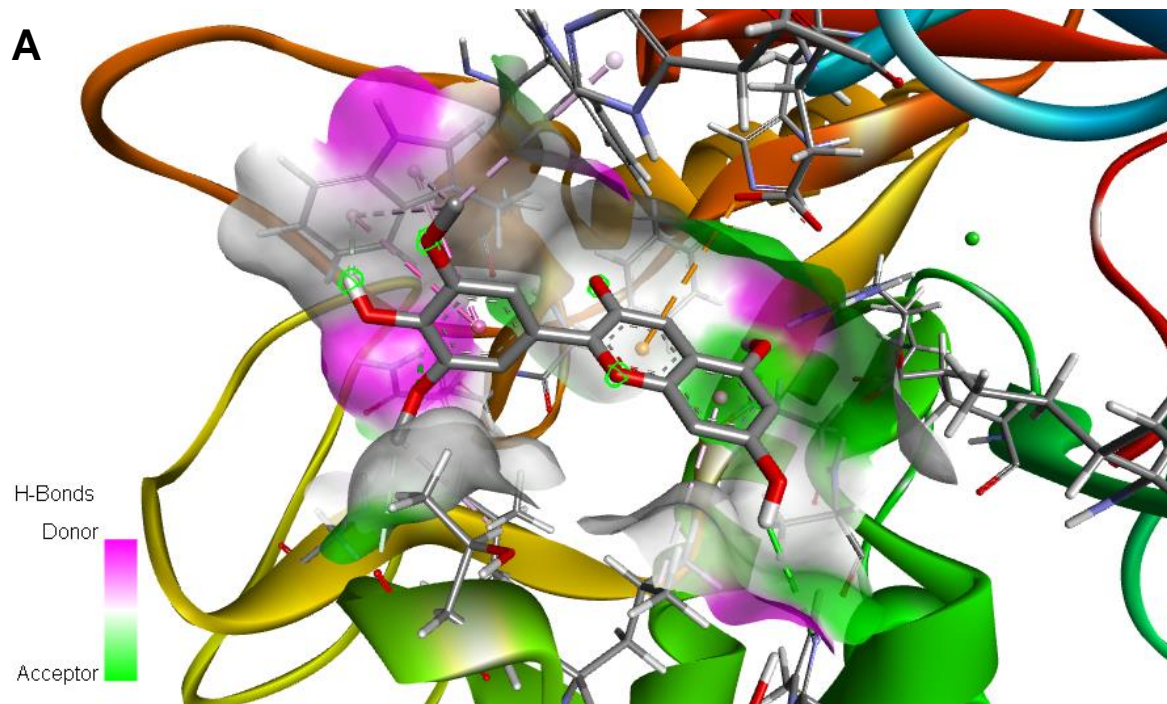
### 7.3.5 Simulación molecular de acoplamiento

Se aplicó la simulación de acoplamiento (Docking) para predecir los sitios de unión precisos de las antocianinas en la enzima  $\alpha$ -amilasa y confirmar los resultados experimentales *in vitro* mencionados en el apartado anterior. El docking es un algoritmo de acoplamiento de alto

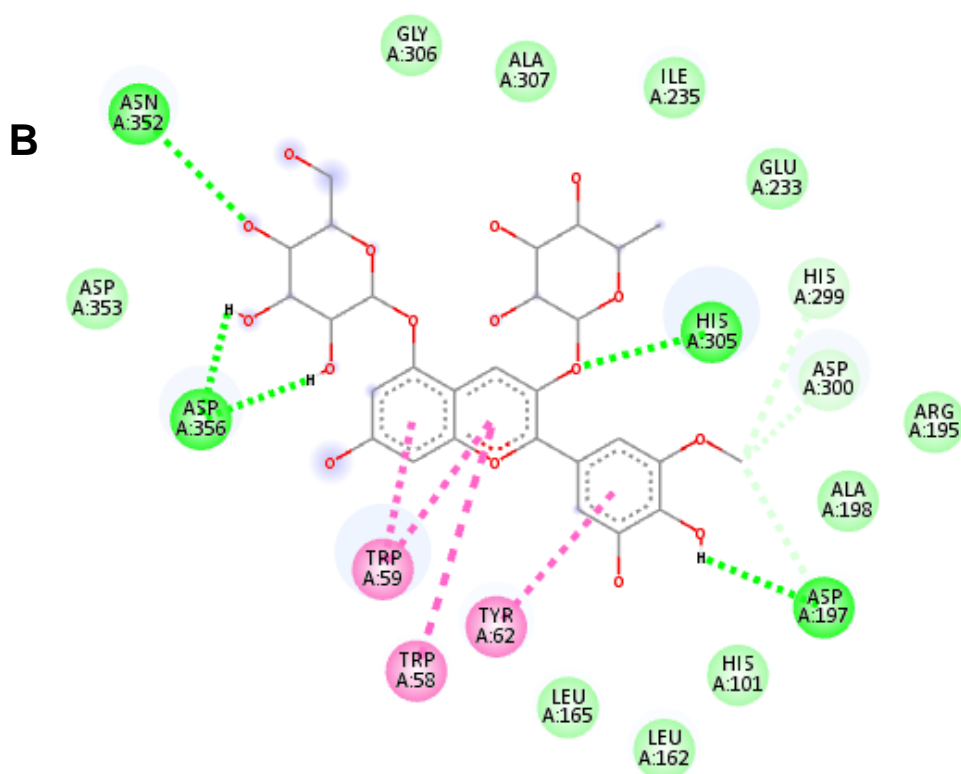
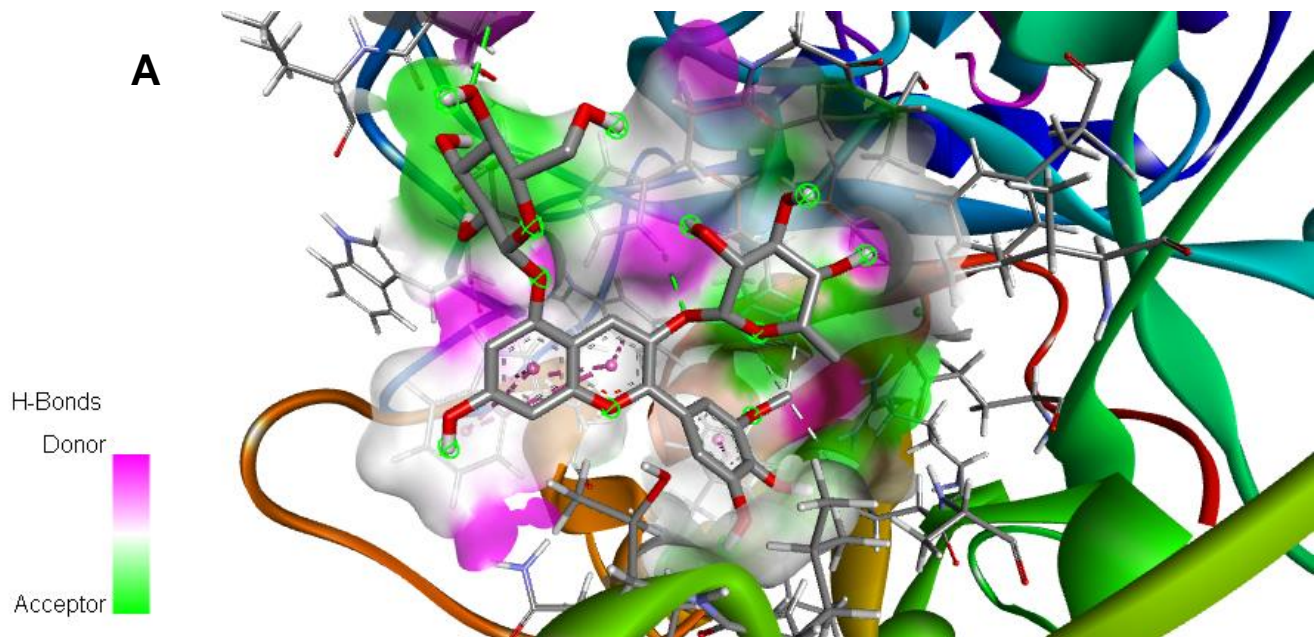
rendimiento que posiciona el catalizador conformacional de ligandos generados en el sitio activo de la proteína, basado en la interacción polar (Singh et al., 2016). En primer lugar se descargaron las estructuras químicas de las antocianinas de la base de datos Pubchem, se minimizó energéticamente; posteriormente se descargó la estructura de la enzima  $\alpha$ -amilasa del sitio web RCSB PDB y fue preparado con autodock, los archivos preparados se sometieron a PyRx, se seleccionó el algoritmo para la proyección virtual, se generaron las conformaciones para cada antocianina, y los resultados se clasificaron en función de la predicción más baja de energía de enlace de cada una. Se realizó el cálculo para las 3 principales antocianinas aciladas que se encuentran en la papa morada (peonidina, pelargonidina y malvidina). En las **Figuras 38, 39 y 40** se puede observar que la enzima tuvo interacción con los residuos por puente de hidrógeno para malvidina: Asp 197, His 201 y Gln 6; para peonidina: Asn 352, Asp 356, His 305 y Asp 197 y para petunidina: Gln 63, His 201 y Asp 197. Con esto se demuestra que el esqueleto de carbono junto con sus grupos hidroxilo juegan un papel crucial en la actividad inhibidora de las antocianinas aciladas con enzimas amilolíticas como la amilasa (Barrett et al., 2018). De hecho la actividad inhibitoria se debe principalmente a los enlaces de H entre los grupos hidroxilo de los fenoles y los aminoácidos específicos en el sitio activo de las enzimas Asp 197 y Glu 233 (Sun et al., 2019). El modo de acoplamiento molecular adaptado al estudio resultó en un receptor rígido y ligandos flexibles, en general la menor energía de activación sugieren que la unión entre la proteína y el ligando es más estable y estrecha (Yang et al., 2020). En la **Figura 38** se observa la modelación de la enzima con malvidina la cual presento la menor energía de activación 7.2 Kcal/mol, lo que indicaría que esta puede acoplarse mejor a la  $\alpha$ -amilasa, en la figura se puede observar la unión de la enzima a través de puentes de hidrógeno para Asp 197 e His 201 con el anillo A de la estructura, el Asp 197 se relaciona con la disminución de la actividad de la enzima, se observa además la unión por puentes de hidrógeno con la estructura del anillo B con Gln 63, en ese mismo anillo se pudo observar la unión con Trp 59 relacionado con la inhibición catalítica de la enzima a través de enlace  $\pi$ - $\pi$ . La antocianina con el siguiente energía de activación fue la peonidina (**Figura 39**) con 8.3 Kcal/mol, y a diferencia de la malvidina, se encontraron la unión de puentes de hidrógeno a en el anillo B con Asp 197 y las cadenas laterales de carbono permitieron la unión con Glu 233, finalmente los anillos A y C, presentaron unión por enlace  $\pi$ - $\pi$  con Trp 29; en el caso de esta antocianina acilada, se

pueden observar además otros enlaces por puentes de hidrógeno que de manera virtual le otorgan estabilidad a la molécula (Xie et al., 2020). Finalmente, la estructura con mayor energía de activación fue la petunidina (**Figura 40**) con 8.8 Kcal/mol y se caracterizó por presentar la misma dinámica que la malvidina.

Un tema pendiente sobre los estudios de antocianinas es la dificultad para obtener la estructura específica que pueda servir como inhibidor potencial y ser utilizadas como tratamientos coadyuvantes en diversas patologías, la proyección virtual identifica características estructurales que son importantes para la actividad biológica categorizado por ligandos potentes (Kaur et al., 2016). Los cambios en las interacciones dieron como resultado cambios estructurales en las antocianinas que posiblemente podría explicar la diferencia en las actividades inhibitorias reportadas en la fase *in vitro*. La relación en la estructura y actividad tanto en el núcleo de las antocianinas como en el glucósido impacta en la actividad inhibitoria que puede clasificarse por dos posibles mecanismos: cambios estructurales que resultan en la modificación de la conformación vinculante, y por lo tanto resulta en actividades variantes; y por el otro lado es que los cambios estructurales dan como resultado una unión similar a la interacción del sitio activo lo que conlleva a alteraciones de la actividad (Xie et al., 2020)

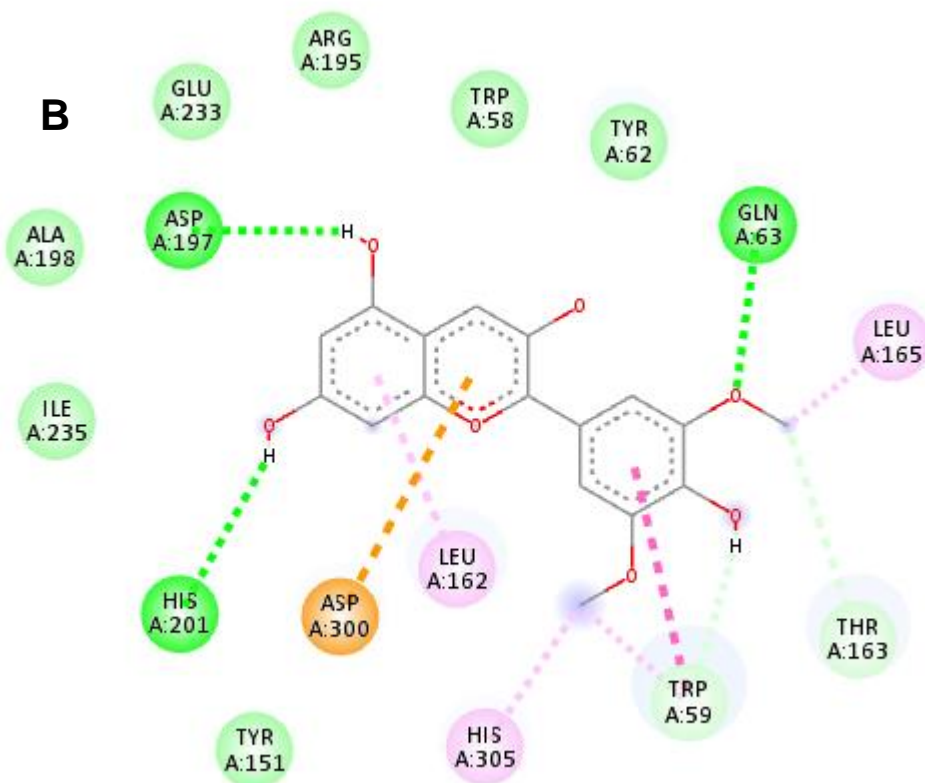
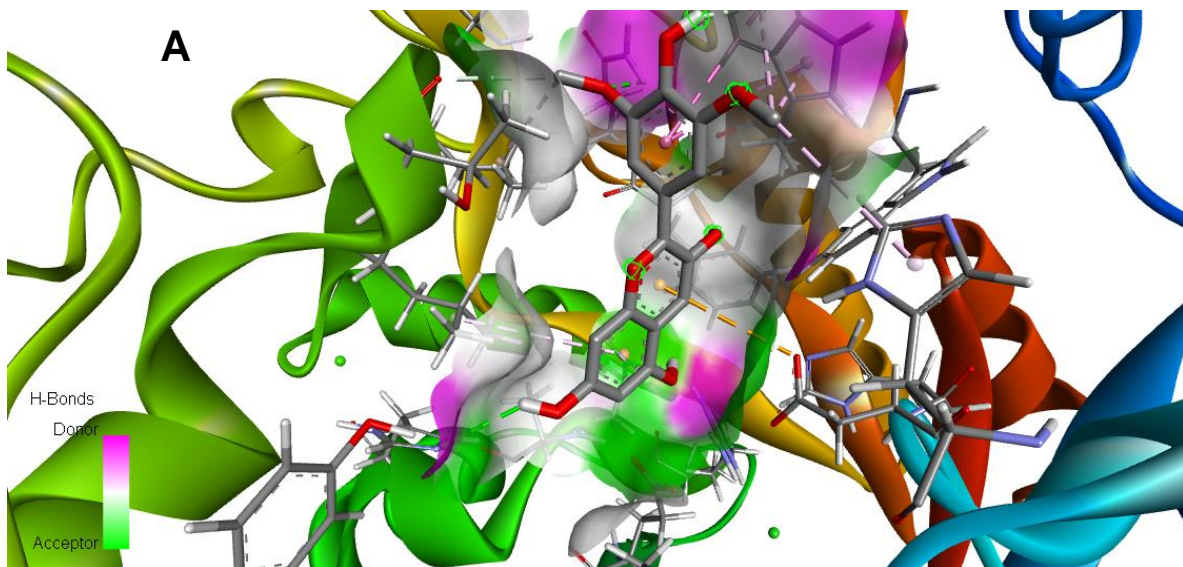


**Figura 38.**A) Acoplamiento 3D entre malvidina y  $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D



**Figura 39.** A) Acoplamiento 3D entre peonidina y  $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D





**Figura 40.** A) Acoplamiento 3D entre petunidina y  $\alpha$ -amilasa, simulado por Discovery Studio. B) Diagrama de interacción 2D

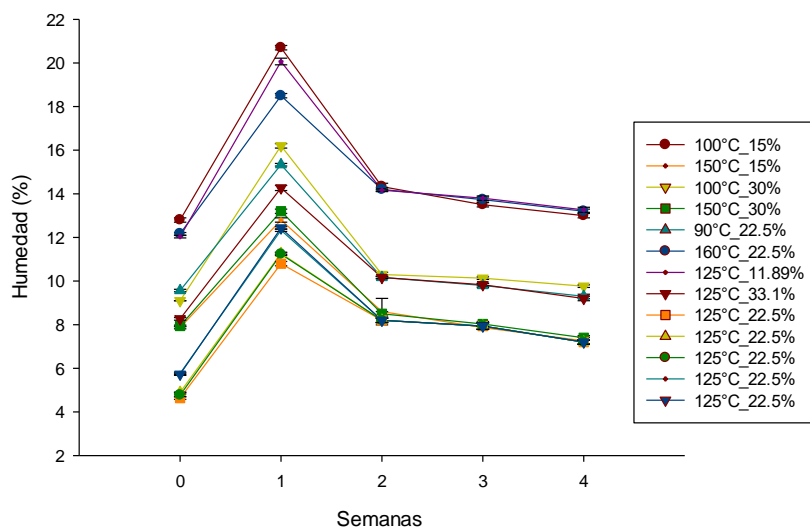
## CONCLUSIONES

1. *El almidón de malanga presentó con el 16.6% de rendimiento utilizando una metodología húmeda, fue adecuada en comparación almidón de malanga aislado en diversas regiones de Asia y América; así mismo la pureza el almidón determinada por técnicas enzimáticas resulto del 87.6 %, que comparado con el almidón de malanga de diversas regiones de México se encuentra en el rango adecuado. De acuerdo con el porcentaje de amilosa-amilopectina, determinado por medio de la técnica de complejación de yodo fue de 11.7%, ubicándolo como un almidón de tipo ceroso. La alta temperatura de gelatinización (79 °C) otorga al almidón resistencia a la modificación de la región cristalina, y está relacionado con el tamaño de gránulo, la entalpía elevada (11.48 J/g) se relaciona con mayor requerimiento de energía para la gelatinización*
2. *El extracto de antocianinas a una dilución 1:100 contiene suficientes compuestos fenólicos (1102.17 µg GAE/ml) y antocianinas 561 mgEC-3G/ml) para ser incorporado en un sistema de microencapsulación con actividad antioxidante del 47% de inhibición para ABTS<sup>+</sup> y 30% para DPPH<sup>+</sup>*
3. *Las condiciones óptimas para la microencapsulación fueron 125 °C de temperatura de entrada y 20.9% de concentración de almidón nativo de malanga, dichas condiciones le otorgaron al sistema un alto porcentaje de deseabilidad (.809)*
4. *El ME optimizado obtuvo un asertividad del 94 al 99% con relación a las predicciones matemáticas del diseño para todas las variables dependientes. La retención de compuestos bioactivos en condiciones de envejecimiento acelerado (52% HR y 55 °C) fue de hasta el 60% en las primeras cuatro semanas de evaluación, siguiendo una cinética de degradación de tipo cero*
5. *El análisis de la evaluación por FTIR y el modelado in silico, sugiere la interacción del almidón con antocianinas, a través de formación de enlaces por puente de hidrógeno, que explicarían la modificación estructural y de digestibilidad del almidón. La liberación in vitro de antocianinas del ME optimizado fue estadísticamente significativa en comparación con el extracto sin encapsular y además sigue una cinética de liberación de primer orden.*
6. *Se demostró que el ME optimizado inhibe la actividad de la  $\alpha$ -amilasa con un IC<sub>50</sub> de 274 mg/ml, y que en relación con la bioaccesibilidad se requiere 4.8 g de polvo para inhibir el 50% de la actividad de la enzima, con un tipo de inhibición reversible mixta.*
7. *El modelado de acoplamiento molecular reveló la interacción de las antocianinas aciladas con ciertos residuos de aminoácidos con una baja energía de activación para malvidina, seguida de petunidina y finalmente la peonidina.*

## ANEXOS

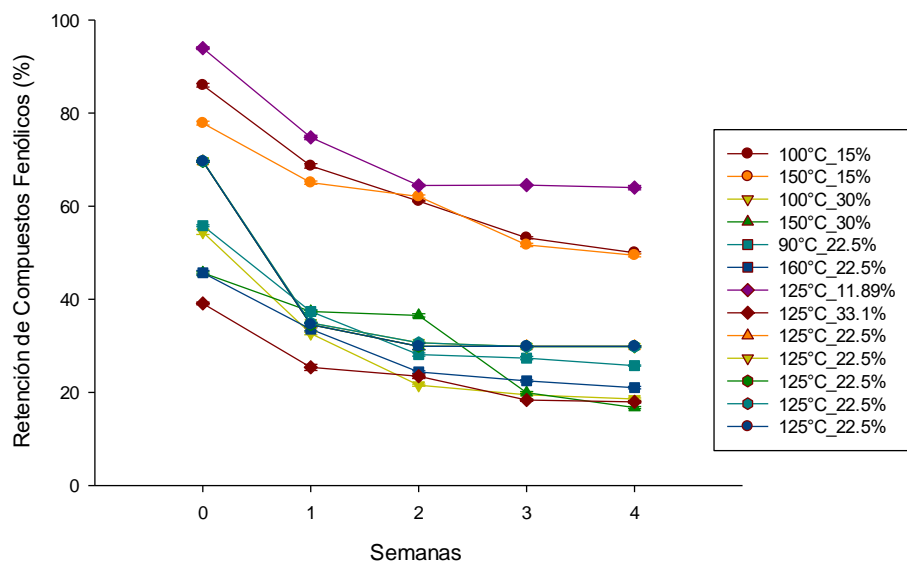
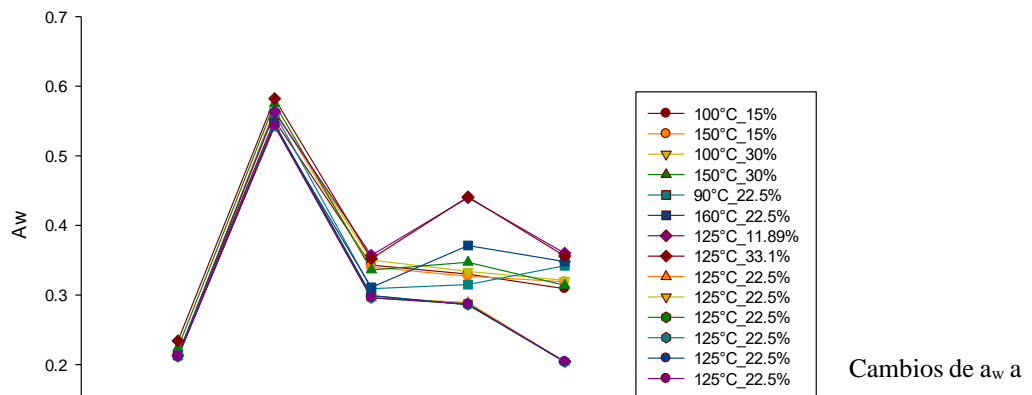
### Anexo 1

Estabilidad de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los tratamientos del modelo de superficie de respuesta con el DCC. En la **Figura 1 y 2**, se presenta el gráfico de cada uno de los tratamientos por variable evaluada en relación con las características fisicoquímicas (humedad y  $a_w$ ). En la **Figura 3 y 4** el contenido de compuestos activos (fenoles y antocianinas) y en la **Figura 5 y 6** por actividad antioxidante por medio de la inhibición de radicales  $ABTS^+$  y  $DPPH^+$ , para el modelo se tomó en cuenta únicamente el contenido de antocianinas, para poder calcular estadísticamente las mejores condiciones de secado.



**Figura 1.** Cambios de porcentaje de humedad por tratamiento del MSR, por semana de medición

Figura 2.



diferentes condiciones calculadas por el MSR  
**Figura 3.** Retención de compuestos fenólicos (%) a diferentes condiciones calculadas por el MSR

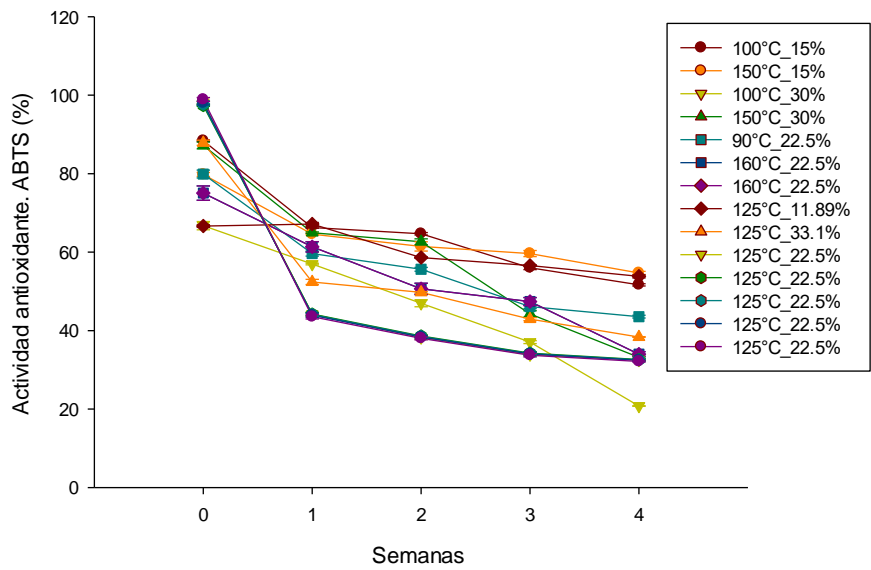


Figura 4. Retención de antocianinas (%) a diferentes condiciones calculadas por el MSR

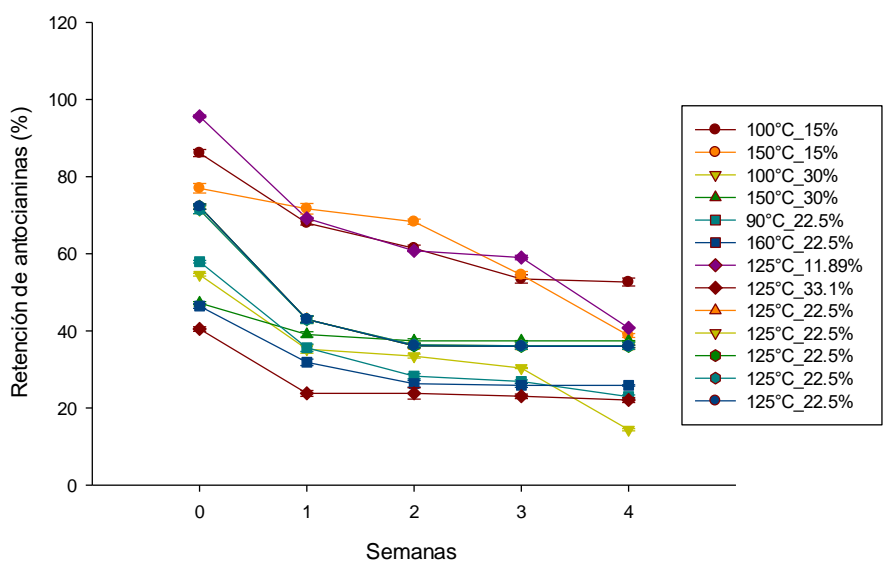
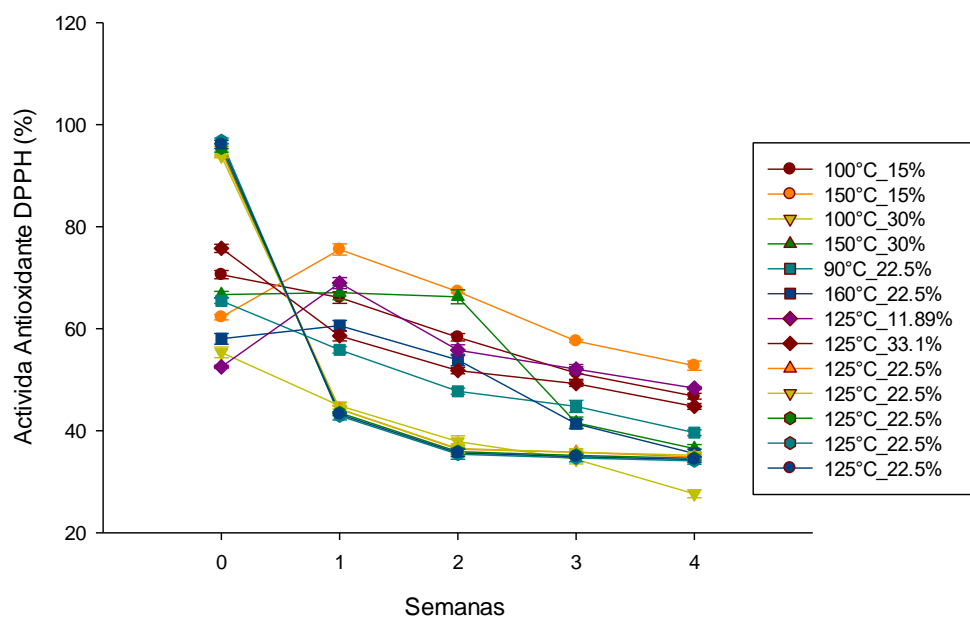


Figura 5. Degradación inhibición del radical ABTS+ (%) a diferentes condiciones calculadas por el MSR

5. Degradación inhibición del



**Figura 6.** Degradación de la inhibición del radical DPPH<sup>+</sup> (%) a diferentes condiciones calculadas por el MSR

## REFERENCIAS

- Agama-Acevedo, E., Garcia-Suarez, F. J., Gutierrez-Meraz, F., Sanchez-Rivera, M. M., San Martin, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Isolation and partial characterization of Mexican taro (*Colocasia esculenta* L.) starch [https://doi.org/10.1002/star.201000113]. *Starch - Stärke*, 63(3), 139-146.  
https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201000113
- Ah-Hen, K., Fuenzalida, C., Hess, S., Contreras, A., Vega-Galvez, A., & Lemus-Mondaca, R. (2012). Antioxidant capacity and total phenolic compounds of twelve selected potato landrace clones grown in Southern Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72, 3-9.
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using  $\beta$  glucan and  $\beta$  cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 435-442.  
https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122
- Ahmed, A., & Khan, F. (2013). Extraction of starch from taro (*Colocasia esculenta*) and evaluating it and further using taro starch as disintegrating agent in tablet formulation with over all evaluation. *Inventi Rapid: Novel Excipients*, 2, 1-5.
- Ahmed, M., Akter, M. S., Lee, J.-C., & Eun, J.-B. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1307-1312.  
https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.014
- Akbarbaglu, Z., Mahdi Jafari, S., Sarabandi, K., Mohammadi, M., Khakbaz Heshmati, M., & Pezeshki, A. (2019). Influence of spray drying encapsulation on the retention of antioxidant properties and microstructure of flaxseed protein hydrolysates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178, 421-429.  
https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.038
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum

- Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379-385. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309, 302-332. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>
- Alfaro-Galarza, O., López-Villegas, E. O., Rivero-Perez, N., Tapia- Maruri, D., Jiménez-Aparicio, A. R., Palma-Rodríguez, H. M., & Vargas-Torres, A. (2020). Protective effects of the use of taro and rice starch as wall material on the viability of encapsulated *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*. *LWT*, 117, 108686. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108686>
- Alnajjar, M., Kumar Barik, S., Bestwick, C., Campbell, F., Cruickshank, M., Farquharson, F., . . . Hoggard, N. (2020). Anthocyanin-enriched bilberry extract attenuates glycaemic response in overweight volunteers without changes in insulin. *Journal of Functional Foods*, 64, 103597. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103597>
- Andersen, Ø. M., & Jordheim, M. (2010a). 3.16 - Chemistry of Flavonoid-Based Colors in Plants. In H.-W. Liu & L. Mander (Eds.), *Comprehensive Natural Products II* (pp. 547-614). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00086-1>
- Andersen, Ø. M., & Jordheim, M. (2010b). Anthocyanins [https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001909.pub2]. *eLS*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001909.pub2> (Major Reference Works)
- Andersen, Ø. M., & Jordheim, M. (2010c). Anthocyanins. In *Encyclopedia of Life Sciences*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001909.pub2>
- Andrade, L. A., Barbosa, Natália Alves and Pereira, Joelma. (2017). Extraction and properties of starches from the non-traditional vegetables Yam and Taro. . *Polímeros [online]*, v. 27, n. 02 pp. 151-157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/0104-1428.04216>



- André, C. M., Oufir, M., Hoffmann, L., Hausman, J.-F. o., Rogez, H., Larondelle, Y., & Evers, D. I. (2009). Influence of environment and genotype on polyphenol compounds and in vitro antioxidant capacity of native Andean potatoes (*Solanum tuberosum* L.) [Article]. *Journal of food composition and analysis*, 2009 v.22 no.6(no. 6), pp. 517-524. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.010>
- Aramwit, P., Bang, N., & Srichana, T. (2010). The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. *Food Research International*, 43(4), 1093-1097. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.01.022>
- Armstrong, L., Araújo Vieira do Carmo, M., Wu, Y., Antônio Esmerino, L., Azevedo, L., Zhang, L., & Granato, D. (2020). Optimizing the extraction of bioactive compounds from pu-erh tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) and evaluation of antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, antihemolytic, and inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities. *Food Research International*, 137, 109430. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109430>
- Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jiménez, M. T., San Martín-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate Polymers*, 102, 423-430. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.033>
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016). Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications [<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>
- Barrett, A. H., Farhadi, N. F., & Smith, T. J. (2018). Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins— A review of efficacy and mechanisms. *LWT*, 87, 394-399. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.002>
- Boonchu, T., & Utama-Ang, N. (2015). Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of food science and technology*, 52(2), 783-792. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1079-7>

- Boulton, R. (2001). The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(2), 67. <http://www.ajevonline.org/content/52/2/67.abstract>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brown, C. R., Wrolstad, R., Durst, R., Yang, C. P., & Clevidence, B. (2003). Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins. *American Journal of Potato Research*, 80(4), 241-249. <https://doi.org/10.1007/BF02855360>
- Cai, X., Du, X., Cui, D., Wang, X., Yang, Z., & Zhu, G. (2019). Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation. *Food Hydrocolloids*, 91, 238-245. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.034>
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248-1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(8), 1415-1422. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.05.001>
- Carmona-Garcia, R., Sanchez-Rivera, M. M., Méndez-Montealvo, G., Garza-Montoya, B., & Bello-Pérez, L. A. (2009). Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*). *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 117-122. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.029>
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. d. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. T., & Meireles, M. A. A. (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food*

- Research International*, 44(2), 499-509.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.007>
- Cevallos-Casals, B. v. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86(1), 69-77.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>
- Corrêa-Filho, L. C., Lourenço, S. C., Duarte, D. F., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Microencapsulation of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Pomace Ethanolic Extract by Spray Drying: Optimization of Process Conditions. *Applied Sciences*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/app9030612>
- Cortés-Rojas, D. F., Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2015). Optimization of spray drying conditions for production of *Bidens pilosa* L. dried extract. *Chemical Engineering Research and Design*, 93, 366-376.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cherd.2014.06.010>
- Cortez-Trejo, M. C., Wall-Medrano, A., Gaytán-Martínez, M., & Mendoza, S. (2021). Microencapsulation of pomegranate seed oil using a succinylated taro starch: Characterization and bioaccessibility study. *Food Bioscience*, 41, 100929.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100929>
- D'Auria, J. C. (2006). Acyltransferases in plants: a good time to be BAHD. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 331-340.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.016>
- Dai, T., Chen, J., Li, Q., Li, P., Hu, P., Liu, C., & Li, T. (2018). Investigation the interaction between procyanidin dimer and  $\alpha$ -amylase: Spectroscopic analyses and molecular docking simulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 427-433. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.189>
- 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.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.247>
- Daveri, E., Cremonini, E., Mastaloudis, A., Hester, S. N., Wood, S. M., Waterhouse, A. L., . . . Oteiza, P. I. (2018). Cyanidin and delphinidin modulate inflammation and

- altered redox signaling improving insulin resistance in high fat-fed mice. *Redox Biology*, 18, 16-24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.05.012>
- de Ancos, B., Gonzalez, E., & Cano, M. P. (1999). Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 208(1), 33-38. <https://doi.org/10.1007/s002170050371>
- de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Garcia, A. O., Queiroz, M. B., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2019). Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. *Food Research International*, 121, 542-552. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.010>
- de Souza, V. B., Carmen Sílvia, F. v.-T., Julio César de Carvalho, B., & Marcelo, T. (2015). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and bioproducts processing*, 93, 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.11.001>
- Debet, M. R., & Gidley, M. J. (2007). Why Do Gelatinized Starch Granules Not Dissolve Completely? Roles for Amylose, Protein, and Lipid in Granule “Ghost” Integrity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4752-4760. <https://doi.org/10.1021/jf070004o>
- Deka, D., & Sit, N. (2016). Dual modification of taro starch by microwave and other heat moisture treatments. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 416-422. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.040>
- Derringer, G., & Suich, R. (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214-219. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>
- Dias, M. I., Ferreira Ic Fau - Barreiro, M. F., & Barreiro, M. F. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. *Food & Function*(2042-650X (Electronic)).
- Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., . . . Nedović, V. (2015). Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452-490. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9106-7>

- Drosou, C. G., Krokida, M. K., & Biliaderis, C. G. (2017). Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of food-related applications. *Drying Technology*, *35*(2), 139-162. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1162797>
- Du, X., An, H., Liu, Z., Yang, H., & Wei, L. (2014). Probing Starch-Iodine Interaction by Atomic Force Microscopy. *Scanning*, *36*, 394-400.
- Dutta, H., Mahanta, C. L., & Singh, V. (2015). Changes in the properties of rice varieties with different amylose content on dry heat parboiling. *Journal of Cereal Science*, *65*, 227-235. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.07.016>
- Elez Garofulić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., & Dragović-Uzelac, V. (2017). Retention of polyphenols in encapsulated sour cherry juice in dependence of drying temperature and wall material. *LWT - Food Science and Technology*, *83*, 110-117. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.017>
- Esatbeyoglu, T., Rodríguez-Werner, M., Schlösser, A., Winterhalter, P., & Rimbach, G. (2017). Fractionation, enzyme inhibitory and cellular antioxidant activity of bioactives from purple sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Food Chemistry*, *221*, 447-456. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.077>
- Falade, K. O., & Okafor, C. A. (2013). Physicochemical properties of five cocoyam (*Colocasia esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium*) starches. *Food Hydrocolloids*, *30*(1), 173-181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.006>
- Fang, J.-L., Luo, Y., Yuan, K., Guo, Y., & Jin, S.-H. (2020). Preparation and evaluation of an encapsulated anthocyanin complex for enhancing the stability of anthocyanin. *LWT*, *117*, 108543. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108543>
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). 4 - Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In N. Garti & D. J. McClements (Eds.), *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals* (pp. 73-109). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857095909.2.73>
- FAO. (2018). Food and Agricultural Organisation, Data base results. Retrieved June.
- Faridi Esfanjani, A., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2018). Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. *Trends in*

- Food Science & Technology*, 76, 56-66.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.002>
- Farr, J. E., & Giusti, M. M. (2018). Investigating the Interaction of Ascorbic Acid with Anthocyanins and Pyranoanthocyanins. *Molecules*, 23(4).  
<https://doi.org/10.3390/molecules23040744>
- Fei, P., Zeng, F., Zheng, S., Chen, Q., Hu, Y., & Cai, J. (2021). Acylation of blueberry anthocyanins with maleic acid: Improvement of the stability and its application potential in intelligent color indicator packing materials. *Dyes and Pigments*, 184, 108852. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108852>
- Felgines, C., Krisa, S., Mauray, A., Besson, C., Lamaison, J.-L., Scalbert, A., . . . Texier, O. (2010). Radiolabelled cyanidin 3-O-glucoside is poorly absorbed in the mouse. *British Journal of Nutrition*, 103(12), 1738-1745.  
<https://doi.org/10.1017/S0007114510000061>
- Fernández, R., & Lizana, X. C. (2020). Antocianinas en *Solanum tuberosum*: Una revisión. *Agro sur*, 48(2), 1-8. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2020.v48n2-01>
- Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G., & Kulling, S. E. (2006). Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *European Journal of Nutrition*, 45(1), 7-18. <https://doi.org/10.1007/s00394-005-0557-8>
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F., Huicochea, E., Núñez-Santiago, M., González, R., & Bello-Pérez, L. (2004). Yield of starch extraction from plantain (*Musa paradisiaca*). Pilot plant study. *Acta científica venezolana*, 55, 86-90.
- Flores, F. P., Singh, R. K., & Kong, F. (2016). Anthocyanin extraction, microencapsulation, and release properties during in vitro digestion. *Food Reviews International*, 32(1), 46-67. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1041185>
- Fossen, T., & Andersen, Ø. M. (2000). Anthocyanins from tubers and shoots of the purple potato, *Solanum tuberosum*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(3), 360-363. <https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511251>
- Fredes, C., Becerra, C., Parada, J., & Robert, P. (2018). The Microencapsulation of Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz) Juice by Spray-Drying and Freeze-Drying Produces Powders with Similar Anthocyanin Stability and Bioaccessibility. *Molecules*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/molecules23051227>

- Fredes, C., Osorio, M. J., Parada, J., & Robert, P. (2018). Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles. *LWT*, *91*, 549-556. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.090>
- Fredriksson, H., Silverio, J., Andersson, R., Eliasson, A. C., & Åman, P. (1998). The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydrate Polymers*, *35*(3), 119-134. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(97\)00247-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617(97)00247-6)
- Friedman, M., Kozukue, N., Kim, H.-J., Choi, S.-H., & Mizuno, M. (2017). Glycoalkaloid, phenolic, and flavonoid content and antioxidative activities of conventional nonorganic and organic potato peel powders from commercial gold, red, and Russet potatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*, *62*, 69-75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.019>
- G.H, L., Frydoonfar, H., R, H., Jamei, R., & Zare, S. (2006). The Effect of Light, Temperature, pH and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species. *Pakistan Journal of Nutrition*, *5*. <https://doi.org/10.3923/pjn.2006.90.92>
- Gani, A., Shah, A., Ahmad, M., Ashwar, B. A., & Masoodi, F. A. (2018).  $\beta$ -d-glucan as an enteric delivery vehicle for probiotics. *International Journal of Biological Macromolecules*, *106*, 864-869. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.093>
- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., Barrera-Figueroa, V., & Martínez-Bustos, F. (2018). Preparation and characterization of octenyl succinylated normal and waxy starches of maize as encapsulating agents for anthocyanins by spray-drying. *Journal of food science and technology*, *55*(6), 2279-2287. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3145-7>
- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., Hernández-Martínez, Á. R., & Martínez-Bustos, F. (2016). Encapsulation of Purple Maize Anthocyanins in Phosphorylated Starch by Spray Drying [<https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-15-0072-R>]. *Cereal Chemistry*, *93*(2), 130-137. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-15-0072-R>

- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., & Martínez-Bustos, F. (2015). Acetylation of normal and waxy maize starches as encapsulating agents for maize anthocyanins microencapsulation. *Food and Bioproducts Processing*, *94*, 717-726.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.10.003>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, *40*(9), 1107-1121.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Giuberti, G., Rocchetti, G., & Lucini, L. (2020a). Interactions between phenolic compounds, amylolytic enzymes and starch: An updated overview. *Current Opinion in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.003>
- Giuberti, G., Rocchetti, G., & Lucini, L. (2020b). Interactions between phenolic compounds, amylolytic enzymes and starch: an updated overview. *Current Opinion in Food Science*, *31*, 102-113.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.003>
- Gonzalez-Soto, R. A., de la Vega, B., García-Suarez, F. J., Agama-Acevedo, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Preparation of spherical aggregates of taro starch granules. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(10), 2064-2069.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.018>
- Grudzińska, M., Czerko, Z., Zarzyńska, K., & Borowska-Komenda, M. (2016). Bioactive Compounds in Potato Tubers: Effects of Farming System, Cooking Method, and Flesh Color. *PLOS ONE*, *11*(5), e0153980.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153980>
- Guldiken, B., Gibis, M., Boyacioglu, D., Capanoglu, E., & Weiss, J. (2018). Physical and chemical stability of anthocyanin-rich black carrot extract-loaded liposomes during storage. *Food Research International*, *108*, 491-497.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.071>
- Gutiérrez-Quequezana, L., Vuorinen, A. L., Kallio, H., & Yang, B. (2018). Improved analysis of anthocyanins and vitamin C in blue-purple potato cultivars. *Food Chemistry*, *242*, 217-224.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.002>



- Hasjim, J., Li, E., & Dhital, S. (2013). Milling of rice grains: Effects of starch/flour structures on gelatinization and pasting properties. *Carbohydrate Polymers*, *92*(1), 682-690. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.023>
- Hazarika, B. J., & Sit, N. (2016). Effect of dual modification with hydroxypropylation and cross-linking on physicochemical properties of taro starch. *Carbohydrate Polymers*, *140*, 269-278. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.055>
- Herrera-Balandrano, D. D., Chai, Z., Hutabarat, R. P., Beta, T., Feng, J., Ma, K., . . . Huang, W. (2021). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of blueberry anthocyanins by AMPK activation: In vitro and in vivo studies. *Redox Biology*, *46*, 102100. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102100>
- Hillebrand, S., Heike, b., bullet, N., Kitzinski, N., Köhler, N., & Winterhalter, P. (2009). Isolation and characterization of anthocyanins from blue-fleshed potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food*, *3*.
- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, *45*(3), 253-267. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00260-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00260-5)
- Hoover R, Ratnayake, W.S. (2004). Determination of total amylase content of starch, in: Handbook of food analytical chemistry-water proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates, ed. by Wrolstad RE, Hoboken, New Jersey, pp. 689- 691.
- Hoyos-Leyva, J. D, Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Alvarez-Ramirez, J. (2018). Potential of taro starch spherical aggregates as wall material for spray drying microencapsulation: Functional, physical and thermal properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *120*, 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.093>
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Perez, L. A., Agama-Acevedo, J. E., Alvarez-Ramirez, J., & Jaramillo-Echeverry, L. M. (2019). Characterization of spray drying microencapsulation of almond oil into taro starch spherical aggregates. *LWT*, *101*, 526-533. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.079>
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J., & Agama-Acevedo, E. (2017). Structural characterization of aroid starches by means of chromatographic

- techniques. *Food Hydrocolloids*, 69, 97-102.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.034>
- Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Alvarez-Ramirez, J., & Garcia, H. S. (2018). Microencapsulation using starch as wall material: A review. *Food Reviews International*, 34(2), 148-161. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1261298>
- Hoyos-Leyva, J. D., Chavez-Salazar, A., Castellanos-Galeano, F., Bello-Perez, L. A., & Alvarez-Ramirez, J. (2018). Physical and chemical stability of l-ascorbic acid microencapsulated into taro starch spherical aggregates by spray drying. *Food Hydrocolloids*, 83, 143-152.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.002>
- IRé, M. (1998). MICROENCAPSULATION BY SPRAY DRYING. *Drying Technology*, 16(6), 1195-1236. <https://doi.org/10.1080/07373939808917460>
- Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. (2012). DEGRADATION KINETICS AND COLOR STABILITY OF SPRAY-DRIED ENCAPSULATED ANTHOCYANINS FROM HIBISCUS SABDARIFFA L. *Journal of Food Process Engineering*, 35(4), 522-542. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00605.x>
- Igoumenidis, P. E., Zoumpoulakis, P., & Karathanos, V. T. (2018). Physicochemical interactions between rice starch and caffeic acid during boiling. *Food Research International*, 109, 589-595.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.062>
- IMARC. (2019). *Native Starch Market, Global industry trends, share, size, growth, opportunity and forecast 2019–2024*. <https://www.imarcgroup.com/native-starch-market>.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.  
<https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jamei, R., & Babaloo, F. (2017). Stability of blueberry (Cornus mas – Yulyush) anthocyanin pigment under pH and co-pigment treatments. *International Journal of Food Properties*, 20(9), 2128-2133.  
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1233116>

- Janaswamy, S. (2014). Encapsulation altered starch digestion: Toward developing starch-based delivery systems. *Carbohydrate Polymers*, *101*, 600-605.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.094>
- Janiszewska-Turak, E. (2017). Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. *Food Research International*, *99*, 891-901.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.001>
- Jiang, T., Shuai, X., Li, J., Yang, N., Deng, L., Li, S., . . . He, J. (2020). Protein-Bound Anthocyanin Compounds of Purple Sweet Potato Ameliorate Hyperglycemia by Regulating Hepatic Glucose Metabolism in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *68*(6), 1596-1608.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06916>
- Johnson, K. A., & Mauer, L. J. (2019). Effects of Controlled Relative Humidity Storage on Moisture Sorption and Amylopectin Retrogradation in Gelatinized Starch Lyophiles. *Journal of Food Science*, *84*(3), 507-523. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14472>
- Jokioja, J., Yang, B., & Linderborg, K. M. (2021). Acylated anthocyanins: A review on their bioavailability and effects on postprandial carbohydrate metabolism and inflammation [<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12836>]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *20*(6), 5570-5615.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12836>
- Kammerer, D. R. (2016). 3 - Anthocyanins. In R. Carle & R. M. Schweiggert (Eds.), *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* (pp. 61-80). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00003-8>
- Kang, H.-J., Ko, M.-J., & Chung, M.-S. (2021). Anthocyanin Structure and pH Dependent Extraction Characteristics from Blueberries (*Vaccinium corymbosum*) and Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) in Subcritical Water State. *Foods*, *10*(3).  
<https://doi.org/10.3390/foods10030527>
- Karmakar, R., Ban, D., & Ghosh, U. (2014). Comparative study of native and modified starches isolated from conventional and nonconventional sources. *International Food Research Journal*, *21*(2), 597.

- Kaur, P., Chamberlin, A. R., Poulos, T. L., & Sevrioukova, I. F. (2016). Structure-Based Inhibitor Design for Evaluation of a CYP3A4 Pharmacophore Model. (1520-4804 (Electronic)).
- Kaushal, P., Kumar, V., & Sharma, H. K. (2015). Utilization of taro (*Colocasia esculenta*): a review. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(1), 27-40.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-013-0933-y>
- Keatkrai, J., Lumdubwong, N., Chaiseri, S., & Jirapakkul, W. (2017). Characteristics of menthone encapsulated complex by mungbean, tapioca, and rice starches. *International Journal of Food Properties*, *20*(4), 810-820.  
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1183129>
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, *98*(3), 385-392.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.016>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, *61*(0).  
<https://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/1257>
- Kj, H., Lachman, J., Vokál, B., & Pivec, V. (1999). Influence of environmental conditions and way of cultivation on the polyphenol and ascorbic acid content in potato tubers. *Rostlinna Vyroba*, *45*, 293-298.
- Kubow, S., Iskandar, M. M., Sabally, K., Azadi, B., Sadeghi Ekbatan, S., Kumarathasan, P., . . . zum Felde, T. (2016). Biotransformation of anthocyanins from two purple-fleshed sweet potato accessions in a dynamic gastrointestinal system. *Food Chemistry*, *192*, 171-177.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.105>
- Lachman, J., & Hamouz, K. (2004). Red and purple coloured potatoes as a significant antioxidant source in human nutrition - A review. *Plant, Soil and Environment*, *51*.  
<https://doi.org/10.17221/3620-PSE>

- Lebot, V., Champagne, A., Malapa, R., & Shiley, D. (2009). NIR Determination of Major Constituents in Tropical Root and Tuber Crop Flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(22), 10539-10547. <https://doi.org/10.1021/jf902675n>
- Lebot, V., Malapa, R., & Bourrieau, M. (2011). Rapid Estimation of Taro (*Colocasia esculenta*) Quality by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9327-9334. <https://doi.org/10.1021/jf202310w>
- Levy, R., Okun, Z., & Shpigelman, A. (2019). The Influence of Chemical Structure and the Presence of Ascorbic Acid on Anthocyanins Stability and Spectral Properties in Purified Model Systems. *Foods*, 8(6). <https://doi.org/10.3390/foods8060207>
- Li, D., Zhang, Y., Liu, Y., Sun, R., & Xia, M. (2015). Purified Anthocyanin Supplementation Reduces Dyslipidemia, Enhances Antioxidant Capacity, and Prevents Insulin Resistance in Diabetic Patients. *J Nutr*, 145(4), 742-748. <https://doi.org/10.3945/jn.114.205674>
- Liang, L., Wu, X., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zou, Y., . . . Yang, L. (2012). In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food Research International*, 46(1), 76-82. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.024>
- Liu, Y., Li, D., Zhang, Y., Sun, R., & Xia, M. (2014). Anthocyanin increases adiponectin secretion and protects against diabetes-related endothelial dysfunction. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 306(8), E975-E988. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00699.2013>
- Lorenc-Kukuła, K., Jafra, S., Oszmiański, J., & Szopa, J. (2005). Ectopic Expression of Anthocyanin 5-O-Glucosyltransferase in Potato Tuber Causes Increased Resistance to Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 272-281. <https://doi.org/10.1021/jf048449p>
- Madruca, M. S., de Albuquerque, F. S. M., Silva, I. R. A., do Amaral, D. S., Magnani, M., & Queiroga Neto, V. (2014). Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. *Food Chemistry*, 143, 440-445. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.003>

- Magallanes-Cruz, P. A., Flores-Silva, P. C., & Bello-Perez, L. A. (2017). Starch Structure Influences Its Digestibility: A Review. *Journal of Food Science*, 82(9), 2016-2023. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13809>
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Assadpoor, E. (2014). Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review. *Drying Technology*, 32(5), 509-518. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.839562>
- Maite T. Escribano-Bailon, C. S.-B. (2012). Anthocyanin Copigmentation - Evaluation, Mechanisms and Implications for the Colour of Red Wines. *Current Organic Chemistry*, 16(6), 715-723. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/138527212799957977>
- Marszałek, K., Woźniak, Ł., Kruszewski, B., & Skąpska, S. (2017). The Effect of High Pressure Techniques on the Stability of Anthocyanins in Fruit and Vegetables. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2). <https://doi.org/10.3390/ijms18020277>
- Martins, A., Beninca, C., Bet, C. D., Bisinella, R. Z. B., de Oliveira, C. S., Hornung, P. S., & Schnitzler, E. (2020). Ultrasonic modification of purple taro starch (*Colocasia esculenta* B. Tini): structural, psychochemical and thermal properties. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 142(2), 819-828. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09298-3>
- Matsuba, Y., Sasaki, N., Tera, M., Okamura, M., Abe, Y., Okamoto, E., . . . Ozeki, Y. (2010). A Novel Glucosylation Reaction on Anthocyanins Catalyzed by Acyl-Glucose-Dependent Glucosyltransferase in the Petals of Carnation and Delphinium *The Plant Cell*, 22(10), 3374-3389. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.077487>
- Matsukawa, T., Inaguma, T., Han, J., Villareal, M. O., & Isoda, H. (2015). Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(8), 860-867. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.03.006>

- Mazza, G., & Brouillard, R. (1987). Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, *25*(3), 207-225.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146\(87\)90147-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146(87)90147-6)
- 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.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197>
- Miao, L., Xu, Y., Jia, C., Zhang, B., Niu, M., & Zhao, S. (2021). Structural changes of rice starch and activity inhibition of starch digestive enzymes by anthocyanins retarded starch digestibility. *Carbohydrate Polymers*, *261*, 117841.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117841>
- Miyasaka, S. C., Bellinger, M. R., Kantar, M. B., Helmkampf, M., Wolfgruber, T., Paudel, R., & Shintaku, M. (2019). Genetic Diversity in Taro (*Colocasia esculenta*). In D. Nandwani (Ed.), *Genetic Diversity in Horticultural Plants* (pp. 191-215). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96454-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96454-6_7)
- Mohammadalinejad, S., & Kurek, M. A. (2021). Microencapsulation of Anthocyanins—Critical Review of Techniques and Wall Materials. *Applied Sciences*, *11*(9).  
<https://doi.org/10.3390/app11093936>
- Molaeafard, S., Jamei, R., & Poursattar Marjani, A. (2021). Co-pigmentation of anthocyanins extracted from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) with some organic acids: Color intensity, thermal stability, and thermodynamic parameters. *Food Chemistry*, *339*, 128070.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128070>
- Mori, M., Hayashi, K., Ohara-Takada, A., Watanuki, H., Katahira, R., Ono, H., & Terahara, N. (2010). Anthocyanins from Skins and Fleshes of Potato Varieties. *Food Science and Technology Research*, *16*(2), 115-122. <https://doi.org/10.3136/fstr.16.115>
- Mousavi Kalajahi, S. E., & Ghandiha, S. (2022). Optimization of spray drying parameters for encapsulation of Nettle (*Urtica dioica* L.) extract. *LWT*, *158*, 113149.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113149>

- Mukurumbira, A. R., Mellem, J. J., & Amonsou, E. O. (2017). Effects of amadumbe starch nanocrystals on the physicochemical properties of starch biocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, *165*, 142-148.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.041>
- Mweta, D. E., Labuschagne, M. T., Bonnet, S., Swarts, J., & Saka, J. D. K. (2010). Isolation and physicochemical characterisation of starch from cocoyam (*Colocasia esculenta*) grown in Malawi [<https://doi.org/10.1002/jsfa.4029>]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(11), 1886-1896.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.4029>
- Narenderan, S. T., Meyyanathan, S. N., & Karri, V. V. S. R. (2019). Experimental design in pesticide extraction methods: A review. *Food Chemistry*, *289*, 384-395.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.045>
- Narwojsz, A., Borowska, E. J., Polak-Śliwińska, M., & Danowska-Oziewicz, M. (2020). Effect of Different Methods of Thermal Treatment on Starch and Bioactive Compounds of Potato. *Plant Foods for Human Nutrition*, *75*(2), 298-304.  
<https://doi.org/10.1007/s11130-020-00808-0>
- Nayak, C. A., & Rastogi, N. K. (2010). Effect of Selected Additives on Microencapsulation of Anthocyanin by Spray Drying. *Drying Technology*, *28*(12), 1396-1404.  
<https://doi.org/10.1080/07373937.2010.482705>
- Nemes, A., Homoki, J. R., Kiss, R., Hegedűs, C., Kovács, D., Peitl, B., . . . Remenyik, J. (2019). Effect of Anthocyanin-Rich Tart Cherry Extract on Inflammatory Mediators and Adipokines Involved in Type 2 Diabetes in a High Fat Diet Induced Obesity Mouse Model. *Nutrients*, *11*(9), 1966. <https://doi.org/10.3390/nu11091966>
- Ocampo-Salinas, I. O., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., Vargas-León, E. A., Guzmán-Ortiz, F. A., Calcáneo-Martínez, N., & Falfán-Cortés, R. N. (2020). Development of wall material for the microencapsulation of natural vanilla extract by spray drying [<https://doi.org/10.1002/cche.10269>]. *Cereal Chemistry*, *97*(3), 555-565. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cche.10269>
- Oertel, A., Matros, A., Hartmann, A., Arapitsas, P., Dehmer, K. J., Martens, S., & Mock, H.-P. (2017). Metabolite profiling of red and blue potatoes revealed cultivar and



- tissue specific patterns for anthocyanins and other polyphenols. *Planta*, 246(2), 281-297. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2718-4>
- Oliveira, J., Azevedo, J., Teixeira, N., Araújo, P., de Freitas, V., Basílio, N., & Pina, F. (2021). On the Limits of Anthocyanins Co-Pigmentation Models and Respective Equations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(4), 1359-1367. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05954>
- Pachau, L., Dutta, R. S., Devi, T. B., Deka, D., & Hauzel, L. (2018). Taro starch (*Colocasia esculenta*) and citric acid modified taro starch as tablet disintegrating agents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 397-405. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.086>
- Palma-Rodriguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch - Stärke*, 65(7-8), 584-592. <https://doi.org/10.1002/star.201200200>
- Paredes-López, O., Schevenin, M.L., Hernández-López, D. and Cárabez-Trejo, A. (1989), Amaranth Starch - Isolation and Partial Characterization. *Starch/Stärke*, 41: 205-207. <https://doi.org/10.1002/star.19890410602>
- Paramera, E. I., Konteles, S. J., & Karathanos, V. T. (2011). Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*,  $\beta$ -cyclodextrin and modified starch. *Food Chemistry*, 125(3), 913-922. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.071>
- Pereira, J., Andrade, L. A., & Alves Barbosa, N. (2017). Extraction and properties of starches from the non-traditional vegetables Yam and Taro. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 27(2), 151-157. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47052149009> (IN FILE)
- Pereira, V. A., de Arruda, I. N. Q., & Stefani, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43, 180-188. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014>

- Pieczkolan, E., & Kurek, M. A. (2019). Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, *129*, 665-671.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.073>
- Pina, F., Melo, M. J., Laia, C. A. T., Parola, A. J., & Lima, J. C. (2012). Chemistry and applications of flavylum compounds: a handful of colours [10.1039/C1CS15126F]. *Chemical Society Reviews*, *41*(2), 869-908. <https://doi.org/10.1039/C1CS15126F>
- Podsędek, A., Redzyna, M., Klewicka, E., & Koziolkiewicz, M. (2014). Matrix Effects on the Stability and Antioxidant Activity of Red Cabbage Anthocyanins under Simulated Gastrointestinal Digestion. *BioMed Research International*, *2014*, 365738. <https://doi.org/10.1155/2014/365738>
- Prior, R. L., & Wu, X. (2006). Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, *40*(10), 1014-1028. <https://doi.org/10.1080/10715760600758522>
- Rafiq, S. I., Jan, K., Singh, S., & Saxena, D. C. (2015). Physicochemical, pasting, rheological, thermal and morphological properties of horse chestnut starch. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(9), 5651-5660. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1692-0>
- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M.-B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017). Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes [10.1039/C7FO00220C]. *Food & Function*, *8*(5), 1942-1954.  
<https://doi.org/10.1039/C7FO00220C>
- Rattes, A. L. R., & Oliveira, W. P. (2007). Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. *Powder Technology*, *171*(1), 7-14.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.powtec.2006.09.007>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9), 1231-1237.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

- Reddy, C. K., Kimi, L., & Haripriya, S. (2016). Variety difference in molecular structure, functional properties, phytochemical content and antioxidant capacity of pigmented rice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *10*(3), 605-613.  
<https://doi.org/10.1007/s11694-016-9344-x>
- Remini, H., Dahmoune, F., Sahraoui, Y., Madani, K., Kapranov, V. N., & Kiselev, E. F. (2018). RECENT ADVANCES ON STABILITY OF ANTHOCYANINS. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*, *13*(4), 257-286.  
<https://doi.org/10.22363/2312-797X-2018-13-4-257-286>
- Reyes, L. F., Miller, J. C., & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Environmental conditions influence the content and yield of anthocyanins and total phenolics in purple- and red-flesh potatoes during tuber development. *American Journal of Potato Research*, *81*(3), 187. <https://doi.org/10.1007/BF02871748>
- Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. (2020). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, *38*(1-2), 235-258. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>
- Riaz, M., Zia-Ul-Haq, M., & Saad, B. (2016). Biosynthesis and Stability of Anthocyanins. In M. Zia Ul Haq, M. Riaz, & B. Saad (Eds.), *Anthocyanins and Human Health: Biomolecular and therapeutic aspects* (pp. 71-86). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26456-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26456-1_6)
- Righi da Rosa, J., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rychecki Hecktheuer, L. H., . . . Severo da Rosa, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, *89*, 742-748.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, *124*, 200-205. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028>
- Rodriguez-Miranda, J., Rivadeneyra-Rodríguez, J., Ramírez-Rivera, E. d. J., Juárez-Barrientos, J., Herrera-Torres, E., O, N.-C., & Hernández-Santos, B. (2011). Caracterización fisicoquímica, funcional y contenido fenólico de harina de malanga

- (Colocasia esculenta) cultivada en la región de Tuxtepec, Oaxaca, México. *Ciencia y Mar*, 15, 37-47.
- Romero-Hernandez, H. A., Sánchez-Rivera, M. M., Alvarez-Ramirez, J., Yee-Madeira, H., Yañez-Fernandez, J., & Bello-Pérez, L. A. (2021). Avocado oil encapsulation with OSA-esterified taro starch as wall material: Physicochemical and morphology characteristics. *LWT*, 138, 110629.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110629>
- Rostami, M., Yousefi, M., Khezerlou, A., Aman Mohammadi, M., & Jafari, S. M. (2019). Application of different biopolymers for nanoencapsulation of antioxidants via electrohydrodynamic processes. *Food Hydrocolloids*, 97, 105170.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.015>
- Ruiz, A., Aguilera, A., Ercoli, S., Parada, J., Winterhalter, P., Contreras, B., & Cornejo, P. (2018). Effect of the frying process on the composition of hydroxycinnamic acid derivatives and antioxidant activity in flesh colored potatoes. *Food Chemistry*, 268, 577-584. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.116>
- Samaniego, I., Espin, S., Cuesta, X., Arias, V., Rubio, A., Llerena, W., . . . Carrillo, W. (2020). Analysis of Environmental Conditions Effect in the Phytochemical Composition of Potato (*Solanum tuberosum*) Cultivars. *Plants*, 9(7).  
<https://doi.org/10.3390/plants9070815>
- Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., . . . Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 297-325. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.008>
- Santana, Á., & Meireles, M. A. (2014). New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. *Food and Public Health*, 5, 229.  
<https://doi.org/10.5923/j.fph.20140405.04>
- Santos-Buelga, C., & González-Paramás, A. M. (2019). Anthocyanins. In L. Melton, F. Shahidi, & P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 10-21). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21609-0>

- Santos-Buelga, C., Mateus, N., & De Freitas, V. (2014). Anthocyanins. Plant Pigments and Beyond. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 6879-6884.  
<https://doi.org/10.1021/jf501950s>
- Schafroth, N., Arpagaus, C., Jadhav, U. Y., Makne, S., & Douroumis, D. (2012). Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90, 8-15.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.038>
- Schirmer, M., Höchstötter, A., Jekle, M., Arendt, E., & Becker, T. (2013). Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio. *Food Hydrocolloids*, 32, 52–63.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.032>
- Shanmathy, M., Mohanta, M., & Thirugnanam, A. (2021). Development of biodegradable bioplastic films from Taro starch reinforced with bentonite. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100173.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100173>
- Sharif, N., Khoshnoudi-Nia, S., & Jafari, S. M. (2020). Nano/microencapsulation of anthocyanins; a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*, 132, 109077. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109077>
- Shrestha, A. K., Howes, T., Adhikari, B. P., & Bhandari, B. R. (2007). Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1593-1600.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.11.003>
- Sikorski, Z. E. (2018). Fennema's Food Chemistry (Fifth Edition) Edited by SrinivasanDamodaranKirk L.Parkin CRC Press, Boca Raton, Florida, 2017. 1107 pp. ISBN 9781482208122 [<https://doi.org/10.1111/jfbc.12483>]. *Journal of Food Biochemistry*, 42(2), e12483. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfbc.12483>
- Silva, P. I., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., & de Oliveira, I. R. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538-544.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>

- Simsek, S., & El, S. N. (2012). Production of resistant starch from taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corm and determination of its effects on health by in vitro methods. *Carbohydrate Polymers*, *90*(3), 1204-1209.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.039>
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Sodhi, N. S., & Gill, B. S. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food chemistry*, *81*(2), 219-231. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00416-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00416-8)
- Singh, S., Awasthi, M., Pandey, V., & Dwivedi, U. (2016). Lipxygenase directed anti-inflammatory and anti-cancerous secondary metabolites: ADMET based screening, molecular docking and dynamics simulation. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, *35*, 1-39. <https://doi.org/10.1080/07391102.2016.1159985>
- Singla, D., Singh, A., Dhull, S. B., Kumar, P., Malik, T., & Kumar, P. (2020). Taro starch: Isolation, morphology, modification and novel applications concern - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *163*, 1283-1290.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.093>
- Sit, N., Deka, S. C., & Misra, S. (2014). Combined effect of ultrasound and enzymatic pretreatment on yield and functional properties of taro (*Colocasia esculenta*) starch [<https://doi.org/10.1002/star.201400085>]. *Starch - Stärke*, *66*(11-12), 959-967.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201400085>
- Sit, N., Deka, S. C., & Misra, S. (2015). Optimization of starch isolation from taro using combination of enzymes and comparison of properties of starches isolated by enzymatic and conventional methods. *Journal of food science and technology*, *52*(7), 4324-4332. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1462-z>
- Sit, N., Misra, S., & Deka, S. C. (2014). Yield and Functional Properties of Taro Starch as Affected by Ultrasound. *Food and Bioprocess Technology*, *7*(7), 1950-1958.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-013-1192-7>
- Spooner, D. M., Ghislain, M., Simon, R., Jansky, S. H., & Gavrilenko, T. (2014). Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes. *The Botanical Review*, *80*(4), 283-383. <https://doi.org/10.1007/s12229-014-9146-y>
- Srichuwong, S., Isono, N., Jiang, H., Mishima, T., & Hisamatsu, M. (2012). Freeze-thaw stability of starches from different botanical sources: Correlation with structural

- features. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1275-1279.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.004>
- Sukhija, S., Singh, S., & Riar, C. S. (2016). Isolation of starches from different tubers and study of their physicochemical, thermal, rheological and morphological characteristics [<https://doi.org/10.1002/star.201500186>]. *Starch - Stärke*, 68(1-2), 160-168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201500186>
- Sun, L., Warren, F. J., & Gidley, M. J. (2019). Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 262-273. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.009>
- Takahama, U., & Hirota, S. (2018). Interactions of flavonoids with  $\alpha$ -amylase and starch slowing down its digestion [10.1039/C7FO01539A]. *Food & Function*, 9(2), 677-687. <https://doi.org/10.1039/C7FO01539A>
- Tari, T., & Singhal, R. (2002). Starch based spherical aggregates: Reconfirmation of the role of amylose on the stability of a model flavouring compound, vanillin. *Carbohydrate Polymers*, 50, 279-282. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00033-4)
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2003). Starch-based spherical aggregates: screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound, vanillin. *Carbohydrate Polymers*, 53(1), 45-51. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00293-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00293-X)
- Tarone, A. G., Cazarin, C. B. B., & Marostica Junior, M. R. (2020). Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation. *Food Research International*, 133, 109092. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109092>
- Thomaz, L., Ito, V. C., Malucelli, L. C., da Silva Carvalho Filho, M. A., Demiate, I. M., Bet, C. D., . . . Lacerda, L. G. (2020). Effects of dual modification on thermal, structural and pasting properties of taro (*Colocasia esculenta* L.) starch. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 139(5), 3123-3132. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-08728-1>
- Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2019). Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation.

- International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1276-1286.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144>
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., & Hubinger, M. D. (2009). Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced with different carrier agents [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x>]. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(10), 1950-1958. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x>
- Trouillas, P., Sancho-García, J. C., De Freitas, V., Gierschner, J., Otyepka, M., & Dangles, O. (2016). Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. *Chemical Reviews*, 116(9), 4937-4982.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00507>
- Turker, N., Aksay, S., & Ekiz, H. İ. (2004). Effect of Storage Temperature on the Stability of Anthocyanins of a Fermented Black Carrot (*Daucus carota* var. L.) Beverage: Shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3807-3813.  
<https://doi.org/10.1021/jf049863s>
- Veiga, R. D. S. D., Aparecida Da Silva-Buzanello, R., Corso, M. P., & Canan, C. (2019). Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 457-473.  
<https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1612788>
- Velásquez-Barreto, F. F., & Sánchez, C. E. V. (2022). Microencapsulation of Purple Mashua Extracts Using Andean Tuber Starches Modified by Octenyl Succinic Anhydride. *International Journal of Food Science*, 2022, 8133970.  
<https://doi.org/10.1155/2022/8133970>
- Vergara, C., Pino, M. T., Zamora, O., Parada, J., Pérez, R., Uribe, M., & Kalazich, J. (2020). Microencapsulation of Anthocyanin Extracted from Purple Flesh Cultivated Potatoes by Spray Drying and Its Effects on In Vitro Gastrointestinal Digestion. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 722.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25030722>
- Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Perez, L. A., Hernandez-Jaimes, C., & Reyes, I. (2020). Role of Endogenous Protein in the Spherical Aggregation of Taro Starch Granules upon Spray-Drying and in In Vitro Digestibility



- [<https://doi.org/10.1002/star.201900087>]. *Starch - Stärke*, 72(9-10), 1900087.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201900087>
- Vinson, J. A. (2019). Intracellular Polyphenols: How Little We Know. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(14), 3865-3870.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07273>
- Wang, M., Chen, J., Ye, X., & Liu, D. (2020). In vitro inhibitory effects of Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) leaves proanthocyanidins on pancreatic  $\alpha$ -amylase and their interaction. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104029.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104029>
- Wang, Q., Chen, Q., He, M., Mir, P., Su, J., & Yang, Q. (2011). Inhibitory Effect of Antioxidant Extracts From Various Potatoes on the Proliferation of Human Colon and Liver Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*, 63(7), 1044-1052.  
<https://doi.org/10.1080/01635581.2011.597538>
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., & Wang, S. (2015). Starch Retrogradation: A Comprehensive Review [<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 568-585.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>
- Wang, X., Reddy, C. K., & Xu, B. (2018). A systematic comparative study on morphological, crystallinity, pasting, thermal and functional characteristics of starches resources utilized in China. *Food Chemistry*, 259, 81-88.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.121>
- Wang, X., Reddy, C. K., & Xu, B. (2018). A systematic comparative study on morphological, crystallinity, pasting, thermal and functional characteristics of starches resources utilized in China. (1873-7072 (Electronic)).
- Warren, F. J., Gidley, M. J., & Flanagan, B. M. (2016). Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure—a joint FTIR–ATR, NMR, XRD and DSC study. *Carbohydrate Polymers*, 139, 35-42.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.066>
- Waterman, P. G., & Mole, S. (1994). Analysis of Phenolic Plant Metabolites.

- Weber, F., & Larsen, L. R. (2017). Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. *Food Research International*, *100*, 354-365.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.033>
- Wing, R. E., Maiti, S., & Doane, W. M. (1988). Amylose content of starch controls the release of encapsulated bioactive agents. *Journal of Controlled Release*, *7*(1), 33-37.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-3659\(88\)90077-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-3659(88)90077-6)
- Wronkowska, M., Soral-Śmietana, M., & Biedrzycka, E. (2008). Utilization of resistant starch of native tapioca, corn and waxy corn starches and their retrograded preparations by Bifidobacterium. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *59*(1), 80-87. <https://doi.org/10.1080/09637480701663862>
- Xie, L., Mo, J., Ni, J., Xu, Y., Su, H., Xie, J., & Chen, W. (2020). Structure-based design of human pancreatic amylase inhibitors from the natural anthocyanin database for type 2 diabetes [10.1039/C9FO02885D]. *Food & Function*, *11*(4), 2910-2923.  
<https://doi.org/10.1039/C9FO02885D>
- Xing, L., Zhang, H., Qi, R., Tsao, R., & Mine, Y. (2019). Recent Advances in the Understanding of the Health Benefits and Molecular Mechanisms Associated with Green Tea Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(4), 1029-1043. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06146>
- Yamane, T., Kozuka, M., Konda, D., Nakano, Y., Nakagaki, T., Ohkubo, I., & Ariga, H. (2016). Improvement of blood glucose levels and obesity in mice given aronia juice by inhibition of dipeptidyl peptidase IV and  $\alpha$ -glucosidase. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *31*, 106-112.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.02.004>
- Yan, F., Dai, G., & Zheng, X. (2016). Mulberry anthocyanin extract ameliorates insulin resistance by regulating PI3K/AKT pathway in HepG2 cells and db/db mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *36*, 68-80.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.07.004>
- Yang, L., Ling, W., Qiu, Y., Liu, Y., Wang, L., Yang, J., . . . Ma, J. (2020). Anthocyanins increase serum adiponectin in newly diagnosed diabetes but not in prediabetes: a randomized controlled trial. *Nutrition & Metabolism*, *17*(1), 78.  
<https://doi.org/10.1186/s12986-020-00498-0>

- Yang, Y., Zhang, J.-l., Shen, L.-h., Feng, L.-j., & Zhou, Q. (2021). Inhibition mechanism of diacylated anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*, 359, 129934.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129934>
- Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of Response Surface Methodology in the Food Industry Processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413-433.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-016-1855-2>
- Zeng, F.-K., Liu, H., & Liu, G. (2014). Physicochemical properties of starch extracted from *Colocasia esculenta* (L.) Schott (Bun-long taro) grown in Hunan, China [https://doi.org/10.1002/star.201300039]. *Starch - Stärke*, 66(1-2), 142-148.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.201300039>
- Zhang, Y., Butelli, E., & Martin, C. (2014). Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 19, 81-90.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.05.011>
- Zhang, Z.-C., Su, G.-H., Luo, C.-L., Pang, Y.-L., Wang, L., Li, X., . . . Zhang, J.-L. (2015). Effects of anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8) on the serum uric acid level and xanthine oxidase activity in hyperuricemic mice [10.1039/C5FO00499C]. *Food & Function*, 6(9), 3045-3055.  
<https://doi.org/10.1039/C5FO00499C>
- Zhao, C.-L., Yu, Y.-Q., Chen, Z.-J., Wen, G.-S., Wei, F.-G., Zheng, Q., . . . Xiao, X.-L. (2017). Stability-increasing effects of anthocyanin glycosyl acylation. *Food Chemistry*, 214, 119-128.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.073>
- Zhao, C. L., Wen, G. S., Mao, Z. C., Xu, S. Z., Liu, Z. J., Zhao, M. F., & Lin, C. (2015). Molecular Structures of the Stem Tuber Anthocyanins of Colored Potatoes and Their Coloring Effects on the Tubers. *Natural Product Communications*, 10(3), 1934578X1501000322. <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000322>
- Zhao, J., & Whistler, R. L. (1994). Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. v. 48.

- Zheng, Y., Tian, J., Yang, W., Chen, S., Liu, D., Fang, H., . . . Ye, X. (2020). Inhibition mechanism of ferulic acid against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*, 317, 126346. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126346>
- Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 129-143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.02.003>
- Zhu, F. (2016). Structure, properties, and applications of aroid starch. *Food Hydrocolloids*, 52, 378-392. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.06.023>