

INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE CALKINÍ

**“Estudio de la bioaccesibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos
encapsulados por coacervación compleja a partir de la cáscara de
Chrysophyllum cainito L”**

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**EGRESADO:
ANALI DEL ROSARIO NAAL CAUICH**

**DIRECTOR Y CO-DIRECTOR:
MC. EMMANUEL DE JESÚS CHI GUTIÉRREZ
DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN**

Calkiní, Campeche, México 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Subdirección de Planeación y Desarrollo

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante

Calkiní, Campeche 45938
P/10/25/786
INGENIERÍA BIOQUÍMICA

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

MODALIDAD: TESIS

C. ANALI DEL ROSARIO NAAL CAUICH 7309
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA BIOQUÍMICA.
PRESENTE

Con relación a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Licenciatura, capítulo VII, fracción I, vigente en este Instituto, y una vez emitido el fallo favorable por el director DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN, y el co-director MC. EMMANUEL DE JESÚS CHI GUTIÉRREZ, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: **"ESTUDIO DE LA BIOACCESIBILIDAD IN VITRO DE COMPUESTOS FENÓLICOS ENCAPSULADOS POR COACERVACIÓN COMPLEJA A PARTIR DE LA CASCARA DE CHRYSOPHYLLUM CAINITO L"**.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría, Fortaleza de Nuestra Cultura®



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE CALKINÍ
"DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR Y APOYO A
ESTUDIANTES"
CLAVE: 04MSU0013P
CALKINÍ, CAMPECHE MÉXICO.

Dr. Jorge Alfonso Hau Puc.
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante.

C.c.p. Archivo



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24900 Tel. 996-8134870,
e-mail: se_dcalkini@tecnm.mx | itescam.edu.mx



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a **mi familia** por todos los esfuerzos todo el esfuerzo, consejos, amor y apoyo incondicional que me han brindado para alcanzar esta meta, también, por creer en mi en esos días de oscuridad, cuando ni yo mismo me sentía capaz de culminar esta etapa.

A mi asesor interno, **MC. Emmanuel de Jesús Chi Gutiérrez** por lo consejos, conocimientos y guía compartida en la culminación de esta etapa académica.

A mi asesor externo, **Dr. Víctor Manuel Moo Huchin** por los conocimientos, paciencia y consideración durante la elaboración de este proyecto. Por toda la confianza brindada en el manejo de los equipos y principalmente de los materiales, desde el primer día que llegamos al laboratorio hasta en la última etapa.

A mis amigos y compañeros **Cristian y Nallely**, porque sin ellos esta etapa hubiera sido más complicado, por sus alegrías, conocimientos y ayuda compartido en el transcurso de mi vida académica.

A **Pablo** por haberme motivado en cada etapa de este trabajo de investigación, por todos sus consejos y la gran paciencia brindada en mis momentos de estrés.

A las Mtras. **Doralli y Cristina**, así como a los Dres. **Juan Pablo y Wilbert** del Laboratorio de Alimentos del Instituto Tecnológico de Mérida por las risas, la buena energía, la paciencia al enseñarme nuevas técnicas y por hacer del laboratorio un lugar donde no se investiga, sino también se disfruta.

Al Instituto Tecnológico de Mérida por abrirme las puertas de sus instalaciones y equipos durante estos últimos meses y así poder culminar este trabajo de investigación.

Al ITESCAM por ayudar en mi formación académica durante estos cuatro años de carrera y brindarme la experiencia en los laboratorios.

A la Fundación José Ortiz Ávila por la beca de financiamiento otorgada, que me permitió continuar y culminar mi carrera.

DEDICATORIA

A mi madre, Rosa María Cauich Cauich por ser mi fuente de motivación, perseverancia, confianza y amor; inspirándome a seguir adelante sin importar las adversidades que se presentaran, durante esta trayectoria llamada “vida”.

A mi padre, José Luis Naal que a pesar de no estar físicamente; siempre fue ejemplo de resiliencia y perseverancia. Y por haber sido el motor de motivación hacia la culminación de una profesión.

Esta tesis es el testimonio de todo lo que me han dado y enseñado durante este camino.

Anali

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES.....	16
2.1 Caimito (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.).....	16
2.1.1 Aprovechamiento de la fruta	18
2.1.2 Características fisicoquímicas de la fruta.....	19
2.2 Compuestos fenólicos	21
2.2.1 Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos	23
2.3 Antocianinas.....	25
2.3.1 Estructura química.....	26
2.3.2 Propiedades biológicas de las antocianinas.....	28
2.3.3 Factores químicos que influyen la estabilidad de las antocianinas	29
2.4 Microencapsulación	33
2.4.1 Agentes de microencapsulación	34
2.4.2 Métodos de microencapsulación	35
2.5 La coacervación compleja como método de microencapsulación de compuestos bioactivos	36
2.5.1 Emulsión doble.....	36
2.5.2 Coacervación compleja.....	38
2.6 Bioaccesibilidad de las antocianinas.....	42
2.6.1 Proceso digestivo de las antocianinas	42
2.7 Técnicas de caracterización de encapsulados	45
2.7.1 Cuantificación de antocianinas totales	45
2.7.2 Cuantificación de compuestos fenólicos	46
2.7.3 DPPH•	47

2.8 Investigaciones recientes de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> de microencapsulados por coacervación compleja	48
3. OBJETIVOS.....	51
3.1 Objetivo general	51
3.2 Objetivos específicos.....	51
4. JUSTIFICACIÓN.....	52
5. MATERIALES Y MÉTODOS	54
5.1 Estrategia general de trabajo.....	54
5.1. Reactivos químicos	55
5.2. Extracción y concentración de antocianinas de la cáscara de <i>C. cainito</i>	55
5.3. Preparación de microcápsulas de antocianinas utilizando emulsión doble seguido de coacervación compleja	55
5.4. Obtención de extractos de antocianinas en los microencapsulados (ATE)	57
5.5. Simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	57
5.5. Métodos analíticos	59
5.5.1 Determinación de antocianinas totales	59
5.5.2 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)	60
5.5.3 Capacidad antioxidante DPPH.....	61
5.5.4. Índice de bioaccesibilidad	61
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
6.1. Índice de bioaccesibilidad (IB) de antocianinas totales (AT)	62
6.2. Índice de bioaccesibilidad (IB) de compuestos fenólicos totales (CFT)	66
6.3. Liberación de la capacidad antioxidante DPPH•	70
CONCLUSIÓN	73
BIBLIOGRAFÍA	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción taxonómica del <i>C. cainito</i> L.....	16
Tabla 2. Composición nutrimental por cada 100 g de la parte comestible de <i>C. cainito</i> L	19
Tabla 3. Características fisicoquímicas de la pulpa del caimito morado y verde (<i>C. cainito</i> L) procedentes del estado de Yucatán.	19
Tabla 4. Contenido promedio de fibra dietética en la porción comestible del caimito morado y verde (<i>C. cainito</i> L).....	20
Tabla 5. Contenido de compuestos bioactivos presentes en la parte comestible del caimito morado	20
Tabla 6. Contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales en la cáscara de <i>C. cainito</i> L.....	20
Tabla 7. Clasificación de los compuestos fenólicos.	22
Tabla 8. Agliconas principales y sustituyente de la antocianina.....	27
Tabla 9. Materiales empleados como recubrimiento en la microencapsulación.....	35
Tabla 10. Principales técnicas de microencapsulación.	35
Tabla 11. Estudios recientes de la digestión gastrointestinal in vitro de microcápsulas mediante coacervación compleja.	48
Tabla 12. Tratamientos de microencapsulación de antocianinas a distintas concentraciones de polímeros y volumen de emulsión.....	56
Tabla 13. Composición de las fases (oral, gástrica y duodenal) de la digestión gastrointestinal in vitro.	57
Tabla 14. Composición de la sal biliar (simulado)	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución actual de las plantas de <i>C. cainito</i> L.....	16
Figura 2. Fruto de caimito (Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, 2012)	17
Figura 3. Estructura química del fenol (Peñarrieta et al., 2014).....	21
Figura 4. Propiedades biológicas de los compuestos fenólicos en la dieta (Cosme et al., 2020)	23
Figura 5. Estructura principal del catión flavilio de la antocianidina y vegetales que lo contienen (Enaru et al., 2021)	26
Figura 6. Estructura de la antocianina del tipo cianidina-3, 5-O- diglucósido.....	27
Figura 7. Estructura de las antocianinas a diferentes pH. Donde $R_1=H$ o glúsido R_2 y $R_3= H$ o metilo. (Castañeda-Ovando et al., 2009)	30
Figura 8. Estabilización de las antocianinas por la generación del complejo de transferencia de carga (interacción de la antocianina con un compuesto fenólico) (Castañeda-Ovando et al., 2009). El ion flavilio está sujeto a un ataque nucleofílico, lo que ocasiona una pseudobase carbonil incolora, sin embargo, cuando se combina con el pirocatecol, se crean complejos de transferencia de carga que produce protección y mejora del color.....	33
Figura 9. Tipos de microcápsula.....	34
Figura 10. Representación de las ED; A ($O_1/W/O_2$) y B ($W_1/O/W_2$). (Henao & Morantes, 2012)	37
Figura 11. Elaboración de la emulsión doble del tipo ($W_1/O/W_2$) (Jiménez-Colmenero, 2013a)	38
Figura 12. Diagrama de la formación de la coacervación compleja; (α) fase líquida rica en polímeros y fase líquida en deficiencia de polímeros (β). (Espinosa-Andrews et al., 2007; Sing, 2017).....	39
Figura 13. Etapas principales para la elaboración de la coacervación compleja. (Martínez- Gómez, 2021)	40
Figura 14. Fases de la digestión gastrointestinal estático in vitro (Brodkorb et al., 2019)	43
Figura 15. Estructuras de las antocianinas modificadas durante el proceso de digestión gastrointestinal in vitro, donde: $R_2=H$ y $R_3 =$ Metilo (Cavalcante-Braga et al., 2018).....	44
Figura 16. Estructuras del catión flavilio (A) y la forma hemiacetal (B). $R= H$ o sustituyente glicosídico (León et al., 2015).	45

Figura 17. Reducción del reactivo Folin-Ciocalteu y producción del cambio de color a azul, debido a la concentración del antioxidante (Ford et al., 2019).	46
Figura 18. Inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) ocasionada por los antioxidantes.	47
Figura 19. Estrategia general de trabajo.	54
Figura 20. Bioaccesibilidad (%) de antocianinas totales de encapsulado T1 y T2, extracto y cáscara de <i>C. cainito</i> en las diferentes fases de la digestión gastrointestinal in vitro. Donde; T1= 1 % PCH y 1 % de ALGP, T2= 1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras para cada fase.	65
Figura 21. IB de CFT solubles de la cáscara de <i>C. cainito</i> , extracto seco y encapsulados T1 y T2, después de cada fase de la digestión simulada. Donde; T1 (1 % PCH y 1 % de ALGP, 1:1), T2 (1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, 1:1), FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras dentro de cada fase.	69
Figura 22. Liberación de la capacidad antioxidante DPPH• de los compuestos fenólicos solubles de la cáscara de <i>C. cainito</i> , extracto seco y encapsulados T1 y T2 después de cada fase de la digestión gastrointestinal simulada. Donde: T1= 1 % PCH y 1 % de ALGP, T2= 1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras dentro de cada fase.	72

RESUMEN

La ingesta de compuestos fenólicos y antioxidantes presentes en subproductos vegetales es de gran relevancia, debido a su potencial bioactivo para conservar la salud y prevenir daños oxidativos. Se ha demostrado que la cáscara de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) tiene altos contenidos de antocianinas totales y de compuestos fenólicos totales de 2.58 ± 0.01 mg cianidina 3 glucósido/g de polvo liofilizado y 7.36 ± 0.09 g de EAG/100 g de peso seco, respectivamente. Por lo tanto, se requiere aplicar estrategias que mejoren su estabilidad y bioaccesibilidad en condiciones gastrointestinales *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados por coacervación compleja de *C. cainito* utilizando un sistema gastrointestinal *in vitro*. Se realizó una extracción asistida por ultrasonidos de compuestos fenólicos a partir de la cáscara liofilizada. Se preparó una emulsión doble seguido de la coacervación compleja variando la concentración de los materiales de pared PCH (T1=1.0 % y T2=1.5 %) y ALGP (T1=1.0 % y T2=1.5 %). Las microcápsulas liofilizadas de compuestos fenólicos fueron sometidas a un modelo de digestión gastrointestinal *in vitro* estático, consistiendo en 3 fases: oral, gástrica (inicial y final) e intestinal (inicial y final). En cada fase de digestión, se recolectaron muestras digeridas y se separó la fracción soluble, la cual se analizó para determinar su contenido de antocianinas totales, compuestos fenólicos totales y su capacidad antioxidante (ensayo DPPH). También se efectuaron análisis comparativos del extracto seco y de la cáscara liofilizada.

Se encontró que el encapsulado T2 (1 % PCH y 1 % ALGP) mostró una mayor bioaccesibilidad compuestos fenólicos y capacidad antioxidante comparado con T1 (1.5 % PCH y 1.5 % ALGP). No obstante, al final de la digestión no se detectó bioaccesibilidad para las antocianinas en ninguno de los dos tratamientos. Mientras que, los compuestos fenólicos mostraron bioaccesibilidad altas al término de la digestión (T1= 98.57 % y T2= 134.76 %) y la capacidad antioxidante también fue considerable (T1= 13.72 % y T2= 30.52 %) en los encapsulados al final de la digestión. Este comportamiento resultó similar para el extracto seco y cáscara liofilizada. En conclusión, el aumento en la concentración de PCH y ALGP ofrece una protección más eficaz a las microcápsulas, favoreciendo una mayor bioaccesibilidad de los CFT y la capacidad antioxidante de la cáscara de caimito al final de la digestión *in vitro*.

Se sugiere profundizar la interacción entre PCH y ALGP para controlar la liberación de las antocianinas de *C. cainito* durante la digestión simulada.

Palabras clave: *Chrysophyllum cainito* L, microencapsulación, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, bioaccesibilidad, digestión gastrointestinal *in vitro*.

1. INTRODUCCIÓN

En el sureste de México (península de Yucatán) se produce o crecen de manera silvestre diversas especies de frutas tropicales; sin embargo, en su mayoría muy conocidos y consumidos en la región que se produce, pero con alto potencial para comercialización a mercados internacionales. Actualmente, los nuevos estilos de vida conllevan al interés de consumo de nuevas frutas o derivados con diferentes sabores, colores y con bondades en la conservación de la salud (Carrillo-Sánchez et al., 2021).

El *C. cainito* L. mejor conocido como caimito pertenece a la familia de Sapotaceae y es originario de las Antillas, aunque con la colonización el cultivo se expandió en diferentes partes del continente, desde el suroeste de México hasta países como Panamá (Morton, 1987; Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, 2012). Según Moo-Huchin et al. (2014) y Can-Cauich et al. (2017) en sus estudios realizados reportaron que la pulpa de la fruta es abundante en compuestos fenólicos, antocianinas, fibra soluble e insoluble y alta actividad antioxidante. Además, se ha encontrado metabolitos secundarios en la cáscara del *C. cainito* variedad morado tales como el ácido elágico, miricetina, quercetina, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico. La cáscara de *C. cainito* tiene un contenido de antocianinas totales y compuestos fenólicos totales de 2.58 ± 0.01 mg cianidina 3 glucósido/g de polvo liofilizado y 7.36 ± 0.09 g de EAG/100 g de peso seco de compuestos fenólicos, respectivamente (Santos-Cervera, 2023). Chel-Guerrero (2018) indica que la cáscara y la pulpa de *C. cainito* muestran propiedades anticancerígenas, antidiabéticos, así como tratamientos para el Alzheimer, cáncer, artritis reumatoide y VIH/SIDA.

Las antocianinas están compuestas por una molécula del ion flavilio o catión 2- fenilbenzopirilio nombrado comúnmente como antocianidina (aglicona) consecuencia de la ausencia de un azúcar. Asimismo, las antocianinas son considerados como pigmentos solubles en el agua y son los responsables de la coloración en las frutas como las fresas, zarzamoras, ciruelas, entre otras; sin embargo, los pigmentos son poco estables a factores como la temperatura, pH y la luz (Roy & Rhim, 2021).

De acuerdo con Santos-Cervera, (2023) el extracto rico en antocianinas de la cáscara de caimito fue afectado significativamente por el efecto combinado de la temperatura y el pH. A temperaturas superiores de 60 °C disminuye el tiempo de vida media a 4 h, mientras que, a pH

inferiores de 3.1 la velocidad de degradación aumenta a 6 h. Asimismo, en un estudio realizado por Ku-Canul, (2021) demostraron que la estabilidad del extracto rico en antocianinas de la cáscara de caimito se ve afectada a mayor temperatura, acortando el tiempo de vida media a 1.19 ± 0.15 d y aumentando la velocidad de degradación a 0.58 ± 0.07 d.

La ingesta de compuestos fenólicos, antocianinas y antioxidantes es de suma importancia por los múltiples beneficios que otorgan a la salud; sin embargo, algunas condiciones de procesamiento de alimentos y su baja estabilidad han demostrado causar dificultades en su bioaccesibilidad y biodisponibilidad. Ludwig et al., (2015) demostraron que la cianidina-3- *O* -glucósido y cianidina- *O* -glucurónido del extracto de antocianinas de frambuesas rojas presentan baja bioaccesibilidad, con una excreción de antocianinas equivalentes al 0.007 % de la ingesta; sin embargo, se obtuvo una recuperación del 15 % del total de metabolitos de antocianinas.

Para mejorar la estabilidad de las antocianinas se emplean técnicas de microencapsulación, lo cual consiste en una capa de biopolímeros que recubre uniformemente al compuesto bioactivo de interés, mejorando su estabilidad fisicoquímica cuando los encapsulados son expuestos a altas temperaturas y luz incandescente (Zambrano Vélez et al., 2024). Entre las técnicas de microencapsulación la más empleada es la coacervación compleja, el beneficio de la coacervación compleja sobre otros métodos se debe a su alta carga útil (hasta 99 %), también, este método otorga simplicidad, bajo costo, libre de solventes, reproducibilidad y una mayor conservación de las propiedades bioactivas (Bakry, Fang, et al., 2016).

La coacervación compleja consiste en el recubrimiento de gotitas o partículas de un material activos, donde la cobertura se produce cuando polielectrolitos con carga opuesta interactúan entre sí en un medio acuoso (Brito De Souza et al., 2020). Un elemento fundamental para la elaboración de las microcápsulas en la coacervación compleja son los agentes encapsulantes como la proteína-polisacárido, ya que, proporciona mejora en su papel funcional como ingrediente alimenticio, sin alteraciones químicas o enzimáticas. La coacervación compleja es ideal para encapsular materiales lipofílicos como aceites esenciales, vitaminas, compuestos bioactivos, etc. Para emplear la técnica de coacervación compleja en antocianinas primero tienen que pasar mediante dos etapas antes de la coacervación; preparación de una emulsión primaria W/O y posteriormente una emulsión doble W/O/W (Shaddel et al., 2018). De acuerdo

con Shaddel et al., (2018) demostraron que al microencapsular el extracto de antocianina de frambuesa negra se obtuvo valores bajos de humedad, higroscopicidad y solubilidad en las microcápsulas, así como mayor capacidad de carga, retención de color y estabilidad durante el almacenamiento.

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados por coacervación compleja de *C. cainito* mediante un sistema gastrointestinal *in vitro*. Esta investigación contribuye en comprender la técnica de encapsulación empleada, así como los agentes encapsulantes, la liberación controlada y la estabilidad de los compuestos fenólicos durante la digestión simulada, para futuras aplicaciones como un alimento funcional.

2. ANTECEDENTES

2.1 Caimito (*Chrysophyllum cainito* L.)

El caimito (*C. cainito*) forma parte de los frutos tropicales, perteneciente a la familia de las sapotáceas donde hay cerca de 800 especies (Petersen et al., 2012; Hernández-Sánchez et al., 2009). En la Tabla 1 se aprecia la descripción taxonómica de este fruto. El caimito es una especie de planta originaria de América tropical, los países en donde hay mayor presencia es en México, Jamaica, Cuba, las Antillas y Colombia (Figura 1) (Calzada, 1980; Roig, 1945). Sin embargo, varios autores lo consideran originario de las Antillas donde posteriormente con la colonización se expandió su cultivo hasta el resto del continente (Morton, 1987).

Tabla 1. Descripción taxonómica del *C. cainito* L

Taxonomía	
Nombre Científico	<i>Chrysophyllum cainito</i> L.
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Ericales
Familia	<i>Sapotaceae</i>
Subfamilia	Chrysophylloideae
Género	Chrysophyllum
Especie	<i>Chrysophyllum cainito</i> L.

Fuente: (Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, 2012)



Figura 1. Distribución actual de las plantas de *C. cainito* L.

Fuente: <https://www.gbif.org/es/species/2885828>

Generalmente, el árbol se adapta a climas tropicales y subtropicales, aunque su temperatura óptima es alrededor de los 20 y 30 °C. Asimismo, las especies de *C. cainito* L son consideradas como plantas ornamentales debido a sus características atractivas que presentan, los cuales incluyen su color, densidad, una producción exponencial de frutos comestibles y gustosas (El-Hawary et al., 2019).

Dependiendo del color de la cáscara se pueden encontrar dos variedades de *C. cainito* L.: la de cáscara morada contiene mayor dulzura, a diferencia de la cáscara verde, ya que este presenta mayor olor (Hernández-Sánchez et al., 2009). La fruta es redonda, pero también puede tener forma ovalada y contar con un diámetro de 5-10 cm. Una característica del caimito es que se puede observar la presencia de látex en la parte superficial, el cual, puede provocar una sensación amarga al ser consumido (León-Hurtado, 1987). En su interior presenta una pulpa carnosa de color blanco y de sabor dulce (Figura 2) (Delascio, 1985; Morton, 1987) también, de acuerdo con Álvarez-Vargas et al., (2006) se ha encontrado frutos con un máximo de 8 semillas, así como frutos sin semilla. En condiciones ventajosas la planta puede llegar a producir alrededor de 90 y 113 kg o más frutos por año (Campbell, 1974).



Figura 2. Fruto de caimito (Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, 2012)

El *C. cainito* L destaca en diferentes países por poseer propiedades medicinales tradicionales. Los curanderos tradicionales de las Costas de Marfil mencionan que posee características beneficiosas para combatir la diabetes. También, la medicina maya mexicana coincide con que las hojas y los tallos de *C. cainito* L. son vistas como alternativa medicinal debido a que pueden ser utilizadas para tratar enfermedades dolorosas y la diabetes (Doan et al., 2018; Déciga-Campos et al., 2017; Meira et al., 2014).

Además, por su alto contenido de compuestos fenólicos y triterpenos, se ha señalado que *C. cainito* L presentan importantes actividades hipoglucemiantes, antiinflamatorias, antioxidantes, gastroprotectoras y cicatrizantes. Los compuestos fenólicos y los triterpenoides predominan como los principales componentes de *C. cainito* L. Recientemente, los productos naturales se han considerado como recursos clave para el desarrollo de fármacos que inhiban la formación de AGE (Meira et al., 2016; Zeng et al., 2019).

2.1.1 Aprovechamiento de la fruta

El caimito tiene diferentes formas de uso y consumo en los países, en su mayoría es mediante consumo fresco de la fruta, llegando a presentar precios elevados en ciertas temporadas. La pulpa otorga una amplia presentación en la gastronomía, ya que se puede realizar conservas de jaleas y posteriormente preparar mermeladas, helados, dulces, rellenos de empanadas, ensaladas, bebidas, postres, salsas, entre otros (Timbe, 2011).

Además, en Jamaica, por su característico sabor dulce se puede mezclar con jugo de naranja y combinarlo con otros fragmentos de frutas como piña, mango, agua de coco y cítricos, refrigerarlo y consumirse en forma de sorbete, esta bebida es muy reconocida como “matrimonio” (Timbe, 2011). También otra forma de obtener una bebida similar a la leche de almendra es por medio del empleo de las semillas de la fruta, igual, las semillas se utilizan como decoración en la repostería (Morton, 1987)

El tronco de caimito es considerado como una madera de buena calidad debido a su dureza, resistencia y alto pesaje, es por ello, en la carpintería tiene un uso constante, también es empleado en vigas, en construcciones de vías férreas o en durmientes (Romero-Castañeda & Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, 1985)

Asimismo, debido a la familia en la pertenece el *C. cainito* L tiene la propiedad de desprender demasiado látex, lo cual, se obtiene como producto con mayor reconocimiento la gutapercha, siendo esta una goma de origen natural, para su posterior proceso y creación de nuevos productos dentro de las industrias (Vallejo & García, 1982)

Por otra parte, el *C. cainito* L tiene un gran aprovechamiento en la medicina tradicional como en la parte de investigaciones científicas, por ejemplo, las hojas y el tallo son muy empleadas debido a su **actividad antidiabética**, teniendo un **efecto inhibidor de la α -glucosidasa** (Doan

et al., 2018). Dependiendo del estado de madurez del fruto se usa para ciertos tratamientos; fruta madura se emplea contra la pulmonía y laringitis, la fruta inmadura en Venezuela se consume como tratamiento de **problemas estomacales**, “**catarro de la vejiga**” y **para la gonorrea**, sin embargo, el consumo en exceso puede causar estreñimiento. En Brasil, el látex pulverizado se emplea para la **disentería** y en estado fresco se aplica en pústulas. Por su parte, las semillas amargas son bebidas para **combatir la fiebre y como diuréticos** (Vallejo & García, 1982).

2.1.2 Características fisicoquímicas de la fruta

De acuerdo con la Tabla 2, presenta la composición nutricional por cada 100 g de *C. canito* información reportada por Parismoreno et al., (2016).

Tabla 2. Composición nutrimental por cada 100 g de la parte comestible de *C. cainito L*

Nutrientes	Cantidad	Nutrientes	Cantidad	Nutrientes	Cantidad
Agua (g)	82.0	Calcio (mg)	21.0	Tiamina (mg)	0.01
Fibra (g)	0.55–3.30	Niacina (mg)	24.0	Vitamina A (mg)	5.0
Energía (Kcal)	68.0	Hierro (mg)	0.30–0.68	Vitamina B1 (mg)	0.03
Proteína (g)	1.8	Riboflavina (mg)	0.02	Vitamina B2 (mg)	11.0
Grasas (g)	0.5	Fósforo (mg)	17.0	Vitamina C (mg)	11.0

De acuerdo con Moo-Huchin et al., (2014), reportaron las propiedades fisicoquímicas de la pulpa del caimito morado y verde (*C. cainito L*) procedentes del estado de Yucatán, lo cual se aprecia en la Tabla 3.

Tabla 3. Características fisicoquímicas de la pulpa del caimito morado y verde (*C. cainito L*) procedentes del estado de Yucatán.

Tipo	Humedad (g/100 g)	Sólidos solubles totales (°Brix)	L°	Tono (°hue)	Acidez titulable (g de ácido cítrico/100 g pulpa)
<i>Caimito morado</i>	84.67 ± 0.06	11.80 ± 0.06	54.77 ± 0.55	348.42 ± 0.84	0.26 ± 0.0004
<i>Caimito verde</i>	83.51 ± 0.05	13.45 ± 0.02	64.68 ± 4.14	93.37 ± 0.51	0.20 ± 0.008

Fuente: (Moo-Huchin et al., 2014)

Asimismo, Moo-Huchin et al., (2014), reportaron el contenido promedio de fibra dietética en la porción comestible del caimito morado y verde (*C. cainito L*), lo cual se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Contenido promedio de fibra dietética en la porción comestible del caimito morado y verde (*C. cainito L*)

Tipo	Fibra dietética total (g/100 g PS)	Fibra soluble (g/100 g PS)	Fibra insoluble (g/100 g PS)
<i>Caimito morado</i>	35.68 ± 0.83	2.72 ± 0.17	32.96 ± 1.00
<i>Caimito verde</i>	30.78 ± 0.42	7.68 ± 0.14	23.10 ± 0.28

Los valores se expresan como promedio ± estándar (n=6), PS= peso seco

Fuente: (Moo-Huchin et al., 2014)

Acorde a Moo-Huchin et al., (2014), la parte comestible del caimito variedad púrpura tiene un alto contenido de compuestos bioactivos tal como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Contenido de compuestos bioactivos presentes en la parte comestible del caimito morado

mg/ de vitamina C/100 g PH	Antocianinas totales (mg / 100 g PH)	Compuestos fenólicos totales (mg de EAG/ 100 g PH)	Flavonoides totales mg de quercetina/100 PS	Carotenoides totales (mg de caroteno/100 g PS)
21.43 ± 4.99	3.24 ± 0.02	14.91± 0.19	35.76 ± 1.46	2.97 ± 0.64

Nota: Los valores se expresan como promedio ± estándar (n=6), PS= peso seco, PH= peso húmedo y EAG= equivalentes de ácido gálico.

Fuente: (Moo-Huchin et al., 2014)

Por otra parte, en el sureste de México, se evaluaron la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos de la cáscara liofilizado de *C. cainito* variedad púrpura, en donde se reportan valores promedios de flavonoides y compuestos fenólicos totales, realizados por Can-Cauich et al., 2017 (Tabla 6)

Tabla 6. Contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales en la cáscara de *C. cainito L*.

Compuestos fenólicos totales (g EAG/100 g PS)	Flavonoides totales (g EQ/100 g PS)
--	-------------------------------------

184 ± 0.07	2.34 ± 0.28
----------------	-----------------

Nota: los valores se expresan como promedio $\pm$ estándar (n=6), PS= peso seco, EAG= equivalentes de ácido gálico y EQ= equivalentes de quercetina.

Fuente: (Can-Cauich et al., 2017)

2.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se encuentran en frutas, semillas, hojas, tallos, raíces y la mayoría en los tejidos vegetales (De La Rosa et al., 2019), con más de 8000 estructuras diferentes, su producción se da en las plantas mediante su crecimiento y desarrollo, o debido a condiciones de estrés en la que están sometidas, como infecciones bacterianas, fúngicas y parasitarias, heridas, cambios de temperaturas extrema o a la exposición de radiación UV (Arfaoui, 2021).

Estructuralmente, los compuestos fenólicos están compuestos por un fenol perteneciente al grupo hidroxilo (-OH), lo cual, está unido a un grupo aromático (fenil). La presencia del anillo aromático en los compuestos fenólicos hace que los ácidos débiles generen un efecto inductivo en el hidrógeno del grupo hidroxilo (figura 3) (Peñarrieta et al., 2014) por ejemplo, los flavonoides; contribuyendo al grupo de los más abundantes y relevantes metabolitos secundarios con los que cuenta la planta (Cendrowski et al., 2017).. Los compuestos fenólicos se presentan de manera libre o conjugados con azúcares, ácidos y otras biomoléculas solubles e insolubles en agua (Skrovankova et al., 2015)

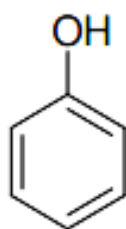
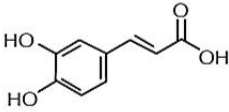
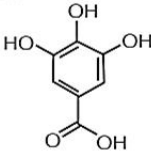
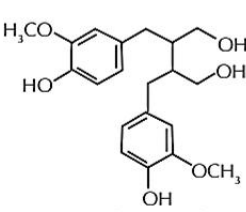
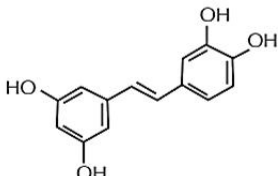
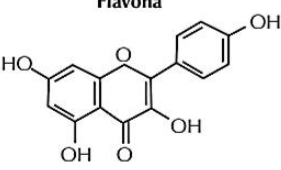
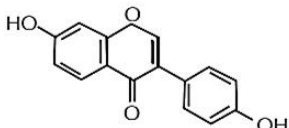
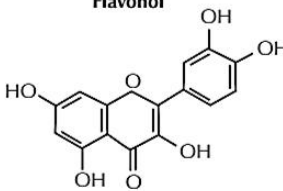
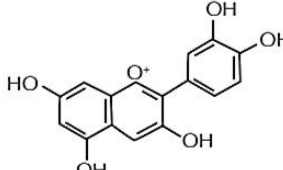
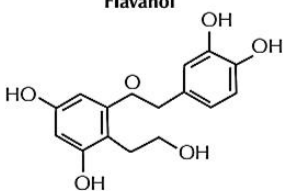
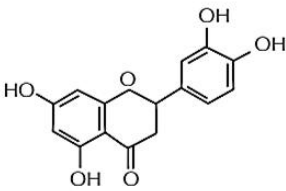


Figura 3. Estructura química del fenol (Peñarrieta et al., 2014)

En la Tabla 7, se aprecia las dos categorías en las que se clasifican los compuestos fenólicos; compuestos no flavonoides y flavonoides. Los compuestos no flavonoides se subdividen en ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas y taninos, en cambio, en los compuestos flavonoides se encuentran los flavonoles, flavonas, flavanoles, flavanonas, isoflavonas y antocianinas (Durazzo et al., 2019)

Tabla 7. Clasificación de los compuestos fenólicos.

No flavonoides		
Ácidos fenólicos  Ácido cafeico  Ácido gálico	Lignan  Secoisolaiciresinol	Estilbenos  Resveratrol
Flavonoides		
Flavona  Apigenina Isoflavona  Daidzeína	Flavonol  Quercetina Antocianinas  Clanidina	Flavanol  Epicatequina Flavanona  Naringenina

Fuente: (Ayala-Mata et al., 2019)

Los compuestos fenólicos son fundamental para la dieta de los seres humanos, debido a que tienen diversas propiedades, los cuales han demostrado gran interés en la industria alimentaria y farmacéutica, ya que pueden ser empleados como **antioxidantes**, **antiinflamatorios**, **antimicrobianos**, **antidiabéticos**, **antihipertensivos** entre muchas otras propiedades (Figura 4) (Abarca-Vargas & Petricevich, 2018).

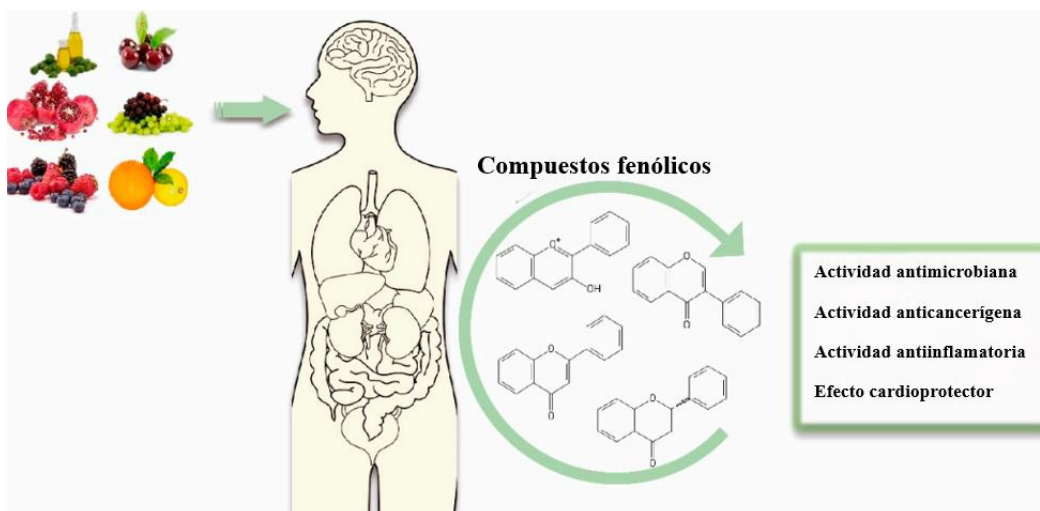


Figura 4. Propiedades biológicas de los compuestos fenólicos en la dieta (Cosme et al., 2020)

Estudios realizados han demostrado efectos benéficos de los compuestos fenólicos sobre la **aterosclerosis**, debido a su capacidad de disminuir la oxidación de las LDL. Asimismo, los compuestos fenólicos tienen la habilidad de aumentar la concentración del colesterol HDL en el plasma, igualmente de inhibir la proliferación del músculo liso vascular (Quiñones, 2012).

Mehmood et al., (2019) encontraron que los compuestos fenólicos podrían prevenir la **hiperuricemia** debido a la inhibición de la enzima xantina oxidasa, responsable de la producción de ácido úrico, elevando la excreción de la enzima y evitando la reabsorción en el riñón y regulando la composición de la microbiota intestinal mejorando la excreción de ácido úrico por el intestino.

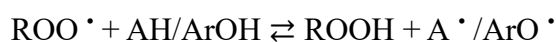
2.2.1 Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos

Los antioxidantes juegan un papel importante en la homeostasis para el mantenimiento de la vida humana. La ingesta de antioxidantes ayuda en la estabilidad de las especies reactivas de oxígeno (EROS), que son dañinas para las células y los tejidos (Gulcin, 2020). El estrés oxidativo se debe al desequilibrio que surge entre las especies reactivas de oxígeno y los antioxidantes, asimismo, las especies reactivas de oxígeno producidas por las mitocondrias en las células, ocasionan varias dificultades a otras células y tejidos (Rakotonirina et al., 2023).

Un antioxidante es una molécula con la capacidad de inhibir la oxidación de otras moléculas, la oxidación se debe a la interacción de radicales libres como las especies reactivas del oxígeno y especies reactivas del nitrógeno. Los antioxidantes pueden secuestrar o inactivar especies

reactivas del oxígeno o nitrógeno atrasando el proceso de oxidación logrando evitar la continuidad de la cadena de oxidación lipídica o proteica (Benítez-Estrada et al., 2020).

Los antioxidantes según por sus mecanismos de acción se dividen en dos categorías: métodos basados en reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y transferencia en un solo electrón (SET). El método HAT mide la capacidad del antioxidante para eliminar radicales libres por medio de la donación de un átomo de hidrógeno. Los mecanismos de acción antioxidante de la HAT se presentan en la siguiente reacción, donde, el átomo de hidrógeno (H) de un fenol (ArOH) se transfiere a un radical peróxido:

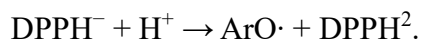
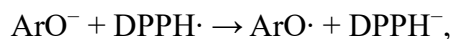
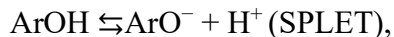


donde: el radical ariloxilo ($\text{ArO}^\bullet$) construido a partir de la reacción del fenol (ArOH, un antioxidante) con un radical peróxido ($\text{ROO}^\bullet$) se estabiliza por resonancia y AH son las biomoléculas protegidas (Munteanu & Apetrei, 2021).

Los mecanismos de acción antioxidante SET detectan la habilidad que tiene un antioxidante potencial para transferir un electrón y de esa manera, disminuir cualquier compuesto, incluyendo metales, radicales y carbonilos. Los métodos SET son lentos y requieren periodos largos de tiempo para que se completen, por lo tanto, los cálculos de la capacidad de antioxidante dependen del porcentaje de disminución del producto en cambio de la cinética (Batalla Mayoral et al., 2019).

Entre los ensayos para medir la capacidad antioxidante *in vitro* de un extracto o un alimento se encuentran el DPPH $\cdot$, ABTS, CUPRAC, FRAP, TRAP, entre otros. Se debe evitar evaluar con un solo método, se deben de realizar diversos procesos de antioxidantes *in vitro* para identificar la actividad antioxidante de la muestra de interés. Es por ello por lo que, al momento de comparar un método de otro se vuelve complicado, por lo tanto, es indispensable la verificación de los métodos de análisis antes de elegir uno para la investigación (Munteanu & Apetrei, 2021).

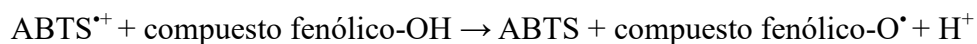
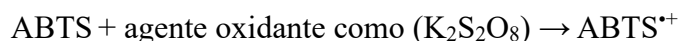
Uno de los métodos más empleados para medir la capacidad antioxidante *in vitro* es el DPPH, consiste en un radical libre cromógeno púrpura (DPPH $\cdot$) lo cual, se reduce mediante antioxidantes (AH) a la hidracina de color amarillo pálido (DPPH-H). El ensayo de DPPH $\cdot$ puede realizarse mediante dos mecanismos HAT y SPLET (consiste en la transferencia de electrones seguida de pérdida de protones) de la siguiente manera (Gulcin, 2020):



La solución de DPPH· recién preparada muestra un color púrpura intenso con una longitud de onda máxima de absorción de 517 nm. Este color púrpura normalmente desaparece cuando hay presencia de un antioxidante en el medio, por lo tanto, el porcentaje de DPPH sobrante es proporcional a la concentración de antioxidantes (Batalla Mayoral et al., 2019).

El DPPH· es un radical libre que se obtiene directamente sin una preparación previa, en cambio, el ABTS se genera tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobina) o también electroquímica. Asimismo, con el ABTS se mide la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, al contrario que, el DPPH solo se disuelve en medio orgánico (Kuskoski et al., 2005).

El ABTS es un ensayo de decoloración donde el radical se genera directamente en una forma estable antes de la reacción con los posibles antioxidantes. El ABTS^{•+} presenta máximos de absorción en medios acuosos (414, 734 y 815 nm) y en medios con etanol (414, 730 y 873 nm), se tiene que preparar antes de su uso y se activa mediante persulfato de potasio (K₂S₂O₈) a ABTS^{•+} realizando el siguiente mecanismo:



El ABTS^{•+} al ser más reactivo involucra al mecanismo HAT y SET, mientras que el DPPH al ser menos reactivo solo involucra el mecanismo HAT (Gulcin, 2020).

2.3 Antocianinas

Las antocianinas provienen del griego anthos que significa flor y kyanos azul, su etimología hace referencia a la fácil visibilidad e identificación en la coloración de las plantas y vegetales. Las antocianinas son considerados compuestos bioactivos de origen fenólico, con propiedades de solubilidad en agua, forman parte de la clase de los flavonoides (Sagdic et al., 2013; Siti

Azima et al., 2017) y se basan en una estructura de catión flavilio, asimismo, contienen una gama de colores visible para el ojo humano que va desde el rojo hasta el azul-morado presentes en las fresas, zarzamoras, uvas, etc., (Li et al., 2017; Roy & Rhim, 2021)

Normalmente las antocianinas se encuentran almacenadas en las vacuolas de las células con un pH alrededor de 5.5 (Islam, 2016) en las flores se encuentran en las células epidérmicas y son consideradas como fenómenos de simbiosis debido a sus funcionalidades fisiológicas y ecológicas, igualmente a las plantas les otorga atracción con los polinizadores para esparcir las semillas, otorga protección contra los efectos ultravioleta, la contaminación microbiana y viral (Delgado-Vargas et al., 2000; Garzón, 2008)

2.3.1 Estructura química

La estructura de las antocianinas está compuesta por una molécula del ion flavilio o catión 2-fenilbenzopirilio nombrado comúnmente como antocianidina (aglicona) (Figura 5) consecuencia de la ausencia de un azúcar. Por lo tanto, las moléculas de antocianinas presentan dos grupos aromáticos, un benzopirilio formados por dos anillos A y C y un anillo fenólico B, enlazados con una cadena de tres carbonos en un ciclo oxigenado heterocíclico (Figura 6) (De Pascual-Teresa & Sanchez-Ballesta, 2008)

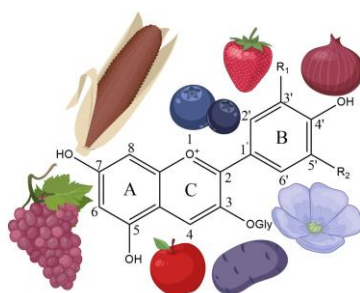


Figura 5. Estructura principal del catión flavilio de la antocianidina y vegetales que lo contienen (Enaru et al., 2021)

También, las antocianinas están unidas a hidratos de carbono en la posición 3 (en ocasiones 5 o 7) o a un azúcar, generalmente de ramnosa y glucosa, continuos por la xilosa, la arabinosa, la galactosa y, en ocasiones de la rafinosa, de igual manera, en la gentiobiosa y la soforsa mediante un enlace α - y β -glucósidos. Generalmente, la estructura se vuelve más estable cuando en la propia molécula se perciben dos azúcares, situados en los hidróxilos 3 y 5, contrario a cuando tiene un solo monosacárido (Ocampo et al., 2008)

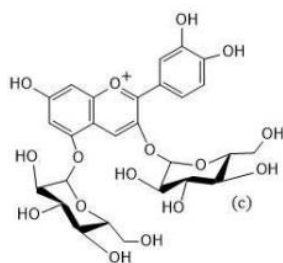
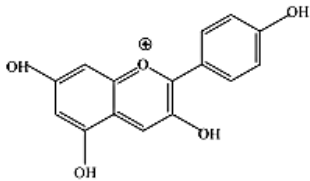
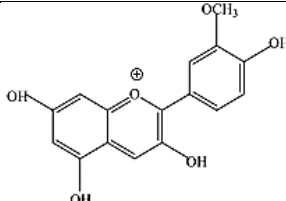
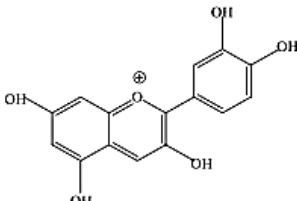
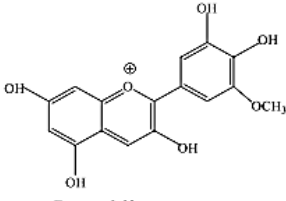
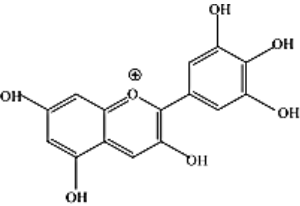
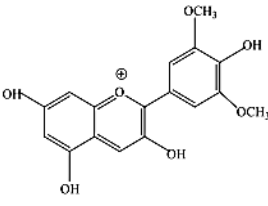


Figura 6. Estructura de la antocianina del tipo cianidina-3, 5-O- diglucósido.

En la tabla 8 se presentan las diferenciaciones estructurales del anillo fenólico (B), otorgando seis antocianidinas con mayor presencia en los vegetales. Las antocianidinas no metiladas con los glicósidos más abundantes en la naturaleza son tres: delfinidina, cianidina y pelargonidina, simbolizando el 80 % de los pigmentos de las hojas, en los frutos el 69 % y en las flores el 50 %. La repartición de las antocianidinas más comunes en las frutas y vegetales son malvidina con una diminuta proporción, petunidina 7% peonidina, delfinidina y la pelargonidina con el 12 % y con mayor porcentaje se encuentra la cianidina con el 50 % de presencia. (Kong et al., 2003)

Tabla 8. Agliconas principales y sustituyente de la antocianina

Aglicona	Sustituyentes		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) Espectro visible	Aglicona	Sustituyentes		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) Espectro visible
	R1	R2			R1	R2	
 Pelargonidina	H	H	494 (naranja)	 Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
 Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)	 Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)

	OH	OH	508 (azul- rojo)		OCH3	OCH3	510 (azul- rojo)
Delfinidina				Malvidina			

Fuente: (Garzón, 2008; Zapata, 2014)

2.3.2 Propiedades biológicas de las antocianinas

Los pigmentos antociánicos además de tener un atractivo y brillante color en la naturaleza cuentan con propiedades que benefician a la salud, debido a su actividad antioxidante y la capacidad de secuestrar radicales libres en los sistemas biológicos. Las antocianinas al pertenecer a los grupos hidroxilo éstos le proporcionan una alta **capacidad de eliminación de radicales libres**. Los grupos hidroxilo fenólicos al liberar átomos de hidrógeno ayudan a descartar los radicales libres, provocando la prevención de la peroxidación de forma más eficaz y seccionar la reacción en cadena de la oxidación. De esta forma, juegan un papel fundamental en la prevención de **enfermedades diabéticas, antiinflamatorias, cardiovasculares y entre otras afecciones**. (Ge & Ma, 2013; Sari et al., 2012). A continuación, se abordará más respecto a los beneficios.

Estudios realizados han demostrado que en Francia existe un bajo riesgo de la **enfermedad coronaria** debido al alto consumo de vino tinto (Aguilera-Otíz et al., 2011). Esto se debe a la presencia de antocianinas provenientes del vino, ya que atrapan especies reactivas de oxígeno e inhiben la oxidación de lipoproteínas y la adición de plaquetas, de esta manera favoreciendo a la población (Ghiselli et al., 1998).

Los extractos antocianinas presentan **capacidad antimicrobiana**, debido a la destrucción de la membrana celular, pared celular y la matriz intercelular, lo que ocasiona la liberación de moléculas polisacáridos de la membrana de las bacterias Gram-negativas (Pojer et al., 2013). Burdulis et al., (2009) demostraron que las bacterias *Citrobacter freundii* (Gram -) y *Enterobacter faecalis* (Gram +) provenientes de extractos de arándanos lograron ser sensibles al inhibir sus crecimientos.

Kang et al., (2013) descubrieron que los extractos con alto contenido de antocianinas del maíz morado en un sistema ex-vivo presentan disminución en la expresión del tejido endotelial que

forma parte del crecimiento vascular endotelial (FCVE), ocasionando un **efecto angiogénesis**, lo cual es un proceso indispensable en el desarrollo del cáncer, ya que puede transformar un tumor de apariencia benigna a maligna.

2.3.3 Factores químicos que influyen la estabilidad de las antocianinas

No obstante, a pesar de las múltiples ventajas que otorgan las antocianinas como colorantes artificiales, al ser aisladas, presentan una mayor inestabilidad y susceptibilidad a la degradación, ocasionando que su inclusión en matrices alimentarias o productos cosméticos y farmacéuticos sea más difícil debido a los procedimientos y procesos de almacenamientos a los que se ven involucrados (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Chávez-Miranda, 2014). Su estabilidad es afectada por diversos factores; como la estructura química, pH, temperatura, luz, oxígeno, enzima, entre otros.

Efecto del pH

Las antocianinas presentan diferentes variaciones en su estructura y estabilidad dependiendo del pH de la solución donde se encuentra (Khoo et al., 2017). La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula (Garzón, 2008). A pH 1, el catión flavilio (AH^+) o ión oxonio (color rojo) es la especie predominante, más estable y aporta a colores púrpura y rojo (Figura 7 A). Conforme aumenta el pH se pierde un protón y se produce la adición de agua, ocasionando la formación de la base quinoidal, esto entre pH 2 y 4 (Figura 7 B-C) de color azul. A pH entre 5 y 6 se aprecian dos especies incoloras, los cuales son especies pseudobases carbonil (Figura 7 E) y una chalcona (Figura 7 F) de color amarillo; se vuelven más sensibles en el medio ambiente. Cuando el pH alcanza un nivel neutro, alrededor de 7 o superior, se producen estructuras quinoidales de color púrpura, sin embargo, presentan una mayor inestables y se degradan con facilidad, principalmente en presencia de oxígeno; ocasionando una acelerada descomposición debido a su oxidación, y en función de sus grupos sustituyentes (Figura 7, reacción de degradación) (Castañeda-Ovando et al., 2009).

De tal manera, se puede mencionar el pH con valores bajos presentan un efecto protector respecto a la estructura de las antocianinas, mientras que, a niveles de acidez altos, las estructuras son más inestables y tienden a degradarse con rapidez.

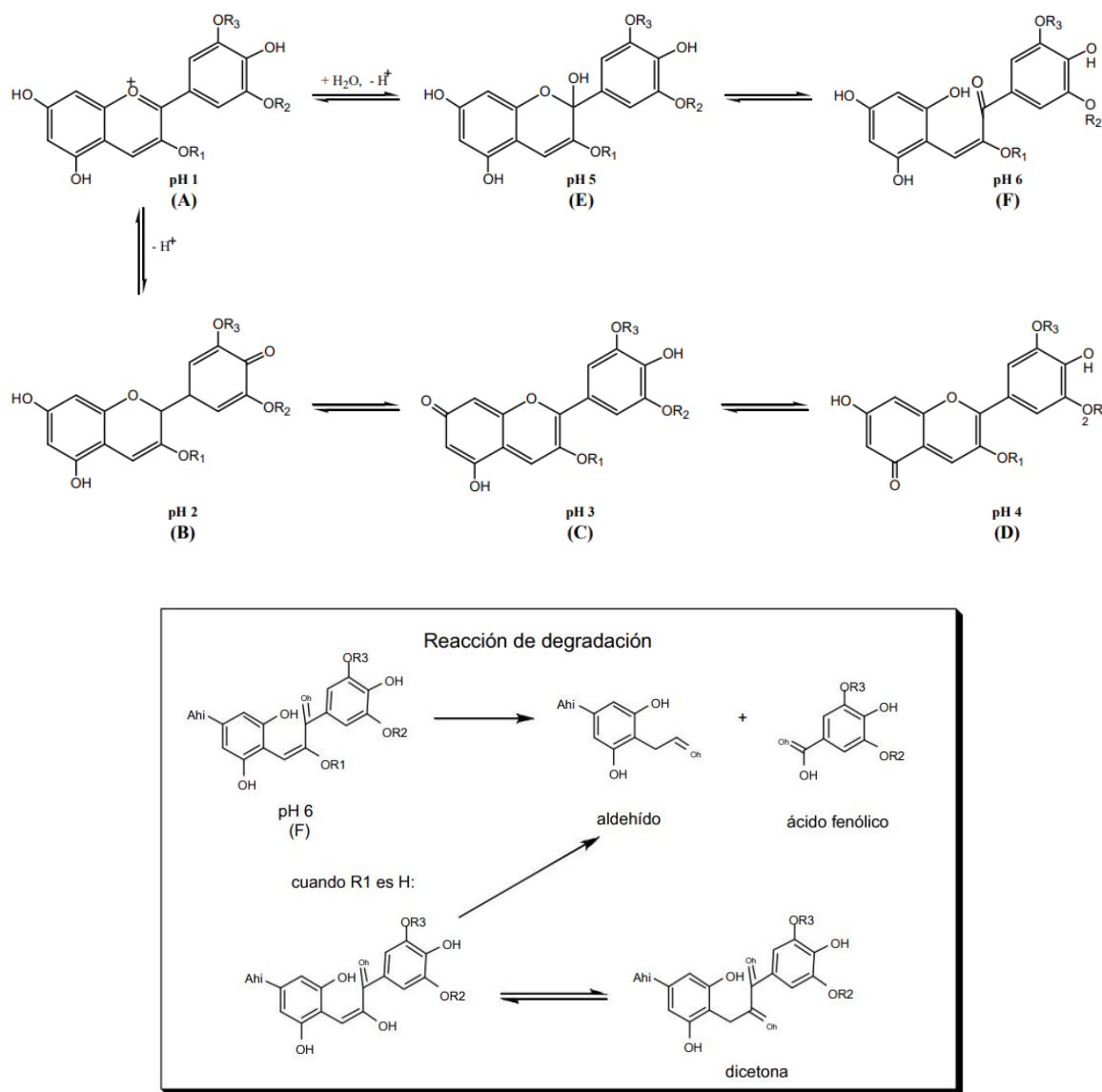


Figura 7. Estructura de las antocianinas a diferentes pH. Donde $R_1=H$ o glúcido R_2 y $R_3=H$ o metilo. (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009)

Efecto de la temperatura

La temperatura es otro factor que influye de forma significativa en la degradación de las antocianinas, ocasionando afectaciones en la calidad e inocuidad de los alimentos que lo contienen. El incremento de la temperatura es constante a la velocidad de degradación y disminución de la coloración de las antocianinas, provocando una degradación cinética de primer orden (logarítmica) (Mercadante & Bobbio, 2008). Por lo tanto, el aumento de la temperatura ocasiona la pérdida del azúcar glucosilante en la posición 3 de la molécula y

apertura de anillo y la producción de chalconas incoloras (Garzón, 2008). Asimismo, las antocianinas con mayor hidroxilación son menos estables térmicamente que las glicosiladas, metiladas o acetiladas (Fennema, 2000). Por ejemplo, según lo reportado por Hellström et al., (2013), la temperatura de almacenamiento afecta la estabilidad de las antocianinas de los jugos de bayas, por lo tanto, la vida media ($t^{1/2}$) de las antocianinas fue menor en temperatura ambiente que en el almacenamiento en frío. En este aspecto, para una mayor eficiencia de conservación a largo plazo de las antocianinas, se recomienda evitar el almacenamiento a temperatura ambiente.

Efecto de la actividad de agua

El agua puede interactuar como nucleófilo y atacar el catión flavilio en el Carbono 2 constituyendo la base carbinol incolora según el mecanismo explicado en la Figura 7. Aunque esta degradación puede variar dependiendo de la concentración de azúcares o de la copigmentación.

Por lo tanto, la actividad de agua es baja cuando los azúcares se encuentran en altas concentraciones, por ello, hay menor posibilidad que las moléculas de agua ataquen al catión flavilio para la formación de la base carbonil. Mientras que, la actividad de agua se ve afectada cuando los azúcares están en bajas concentraciones, de esta manera, sus productos de degradación aceleran la pérdida de antocianinas (Kopjar & Piližota, 2009; Lewis, 1995)

Efecto del oxígeno y ácido ascórbico

Existe una relación degradativa del oxígeno y el ácido ascórbico con relación a la estabilidad de las antocianinas. La oxidación de las antocianinas puede surgir de dos maneras: por reacción directa con el oxígeno o por oxidación indirecta; este último reacciona con compuestos previamente oxidados y en consecuencia forman productos de color marrón o incoloros. Igualmente, se pueden relacionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes. Por lo tanto, estos mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura (Rein, 2005)

En presencia de oxígeno, se forma peróxido de hidrógeno debido a la destrucción de las antocianinas por el ácido ascórbico. Esta reacción se inhibe en presencia de flavonoles como la quercetina y se acelera en presencia de cobre. El período de hidrógeno rompe el anillo de pirilio de la antocianina por medio de un ataque nucleofílico en el C2, originando ésteres incoloros y

derivados de la cumarina. Estos productos de degradación son completamente destruidos y se polimerizan para formar un precipitado marrón (Fennema, 2000).

Efecto de la luz

Además del pH y la temperatura, las antocianinas son compuestos inestables en exposición a la luz UV o visible, este factor puede originar la excitación de las antocianinas ocasionando su descomposición química. Estudios han observado que la modificación del hidroxilo en el C-5 provoca la vulnerabilidad de la antocianina a la fotodegradación cuando se presenta con flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas (Delgado-Vargas et al., 2000).

Enzimas

De igual manera, las antocianinas tienden a ser inestables en presencia de enzimas como la β -glucosidasa que hidroliza el enlace glucosídico en el carbono 3, generando la inestabilidad de las antocianinas por la producción de aglicona, lo cual es incolora y de rápida degradación (Baublis et al., 1994). También, la enzima polifenol-oxidasa de manera indirecta puede facilitar la degradación de las antocianinas, mediante la oxidación de algunos compuestos fenólicos de éstas y origina productos quinonas, los cuales son responsables de la polimerización de las antocianinas y la formación de pigmentos marrones (Khoo et al., 2017).

Efecto de Co-pigmentación

La copigmentación es un fenómeno en el que los pigmentos y otros compuestos orgánicos son incoloros o iones metálicos, forman conjuntos moleculares o complejas, originando un cambio o un incremento en la intensidad del color, al igual que una mayor estabilidad en los colores. Algunos compuestos empleados como copigmentos son las antocianinas, flavonoides, aminoácidos, ácidos orgánicos, entre otros compuestos (Aguilera et al., 2016; Khoo et al., 2017)

La co-pigmentación se sustenta en dos efectos principales (Figura 8) (Castañeda-Ovando et al., 2009):

- I. Formación de un complejo $\pi - \pi$ o también conocido como complejo de transferencia de carga, genera modificaciones en las propiedades espectrales del ion flavilio, aumentando su intensidad de absorción y longitud de onda.

- II. El color rojo incrementa debido al desplace de la estabilización de la forma flavilio por el complejo π .

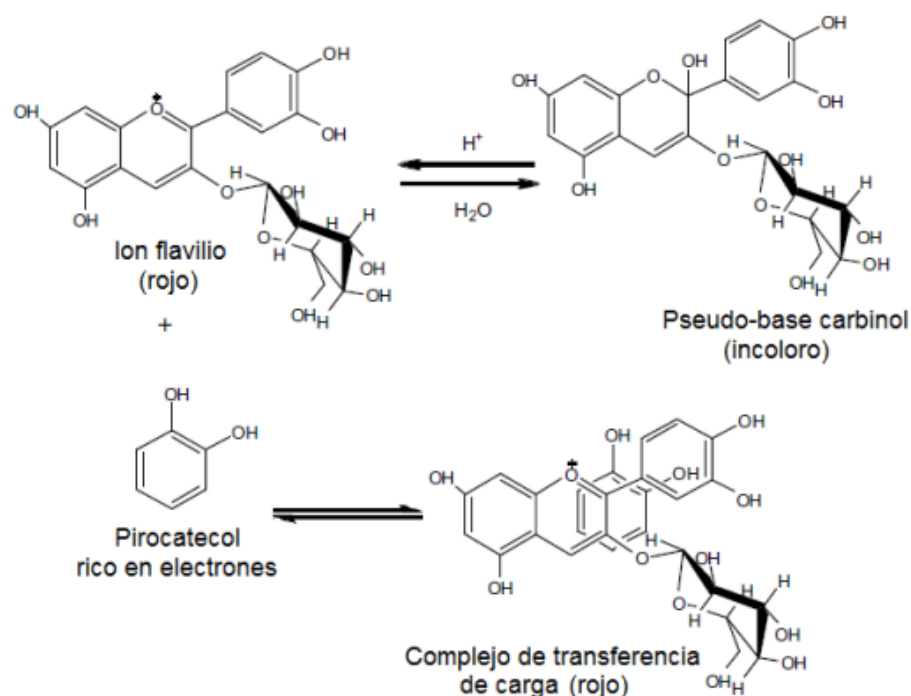


Figura 8. Estabilización de las antocianinas por la generación del complejo de transferencia de carga (interacción de la antocianina con un compuesto fenólico) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). El ion flavilio está sujeto a un ataque nucleofílico, lo que ocasiona una pseudobase carbonil incolora, sin embargo, cuando se combina con el pirocatecol, se crean complejos de transferencia de carga que produce protección y mejora del color.

2.4 Microencapsulación

La microencapsulación es una técnica empleada como recubrimiento de núcleos sólidos, líquidos o gaseosos, por medio de paredes con diferentes biopolímeros, como, alginato, gelatinas, ácidos grasos, resinas hidrocarbonadas, gomas, etc. El biopolímero tiene como objetivo protegerlos de factores ambientales, aislar el núcleo y evitar efectos a una exposición inadecuada (Bakry, Abbas, *et al.*, 2016).

Las partículas encapsuladas están compuestas por una barrera firme, delgada, esférica y semipermeable que atrapa a un núcleo sólido o líquido con un diámetro que según su tamaño se clasifican en: macrocápsulas ($>5.000 \mu m$), microcápsulas (0.2 a $5.000 \mu m$) y nanocápsulas (<0.2

μm) y con respecto a su forma y construcción: microcápsulas y microesferas (Silva et al., 2014). Dependiendo de la distribución del núcleo de las microcápsulas pueden ser: mononucleares o polinucleares. En la Figura 9 se puede observar las diversas formas en las que se pueden percibir a las microcápsulas, ya sea por membranas simples, múltiples capas o de múltiples núcleos donde la matriz puede ser del mismo material o combinado con varios (F. Gibbs, Selim Kermasha, Intez Al, 1999)

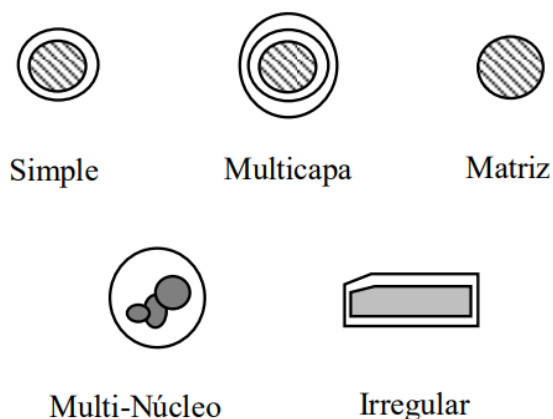


Figura 9. Tipos de microcápsula.

2.4.1 Agentes de microencapsulación

En la microencapsulación, el material del agente encapsulante se elige mediante el tipo de sustancia activa, sus propiedades y su aplicación. Sin importar el tipo de material que se vaya a emplear, la transformación de las propiedades fisicoquímicas será una condición para el desarrollo exitoso de nuevos productos. Por lo tanto, es indispensable el estudio y análisis de todas las características de los materiales utilizados para la obtención de las microcápsulas y de esa manera, determinar el comportamiento en condiciones de producción, almacenamiento y consumo (Sandoval-Peraza et al., 2017).

En la Tabla 9 se aprecia los posibles materiales a emplear para la encapsulación, los cuales deben tener cierto grado alimenticio, biodegradables y con la capacidad de formar una barrera entre la parte interna y su alrededor (Nedovic et al., 2011).

Tabla 9. Materiales empleados como recubrimiento en la microencapsulación.

Material para encapsular	Cobertura específica
Polisacáridos	Almidón, maltodextrinas, quitosano, alginato, ciclodextrinas, carregenatos, gomas
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, carboximetil-celulosa
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácidos esteáricos, trisetearina
Proteínas	Gluten, caseína, albúmina

Fuente: (Nava-Reyna et al., 2015; Obando-Mora, 2022)

2.4.2 Métodos de microencapsulación

La elección adecuada de la técnica de microencapsulación depende del tamaño de las partículas las propiedades fisicoquímicas del agente encapsulante, de las sustancias a encapsular, de la aplicación final deseada, del costo y del mecanismo de liberación. Por lo tanto, la técnica seleccionada debe de asegurar la funcionalidad, biodisponibilidad del compuesto e incluso la fácil incorporación en los alimentos, sin alterar sus propiedades sensoriales (Pal et al., 2009).

En la Tabla 10 se presentan las diversas técnicas de microencapsulación:

Tabla 10. Principales técnicas de microencapsulación.

Procesos físicos	Procesos químicos	Procesos fisicoquímicos
Liofilización	Polimerización	Coacervación
Secado por aspersión	Coalescencia	Liposoma
Extrusión	Inclusión molecular	Gelificación iónica
Recubrimiento por lecho fluidizado	Emulsificación	

Fuente: (Yañez et al., 2002)

2.5 La coacervación compleja como método de microencapsulación de compuestos bioactivos

2.5.1 Emulsión doble

Las emulsiones son sistemas que consisten en la mezcla de dos o más líquidos inmiscibles donde uno de ellos se encuentra en forma de gotas dispersas (fase interna o discontinua) dentro de otro líquido (fase externa o continua). Esto se obtiene debido al empleo de estabilizantes, disminuyendo la tensión superficial entre las fases, formando una capa entre la fase dispersa y la fase continua. Estos sistemas son empleados en diferentes industrias como la agricultura, alimentos, farmacéutica, alimentos, cosmética, entre otras (Silva-Jerez & Oyarzún-Cayo, 2021).

Dentro de las emulsiones múltiples, uno de los principales son las **emulsiones dobles (ED)**, los cuales son sistemas multicompartimentalizado caracterizado por contener una emulsión dentro de otra emulsión. Lo que quiere decir que en las emulsiones dobles existen gotas dispersas de emulsiones simples donde se están presentes gotas más pequeñas de agua en aceite (W/O) o aceite en agua (O/W) dentro de ellas (Jiménez-Colmenero, 2013b). Las emulsiones dobles tienen mayores ventajas que las emulsiones simples, debido a la disposición de encapsular, proteger y liberar de manera simultánea compuestos hidrófilos y/o lipófilos y ofrecer una disminución sustancial de la grasa al tener dos fases acuosas.

Las emulsiones dobles pueden clasificar de la siguiente forma:

- **Emulsiones aceite en agua en aceite ($O_1/W/O_2$)** (Figura 10A): la cual la emulsión interna (O_1/W) se encuentra dispersa en forma de gotas pequeñas dentro de una fase externa acuosa (O_2) (Henao & Morantes, 2012). Las emulsiones se han empleado para el aumento de la percepción del sabor en productos continuos de grasa, por medio del agregado de ingredientes aromatizantes, también en la disminución del 7 % y el 11 % de grasa animal en productos cárnicos y la mejora del color mediante colorantes naturales (Tenorio-Garcia et al., 2022; Eisinaite et al., 2017).
- **Emulsiones agua en aceite en agua ($W_1/O/W_2$)** (Figura 10B): en esta la emulsión interna (W_1/O) esta dispersada en forma de gotas pequeñas dentro de una fase externa acuosa (W_2) (Henao & Morantes, 2012). Entre las principales aplicaciones de las emulsiones $W_1/O/W_2$ están la encapsulación de compuestos sensibles, como las vitaminas, los antioxidantes y los microorganismos, entre otros (Eslami et al., 2017).

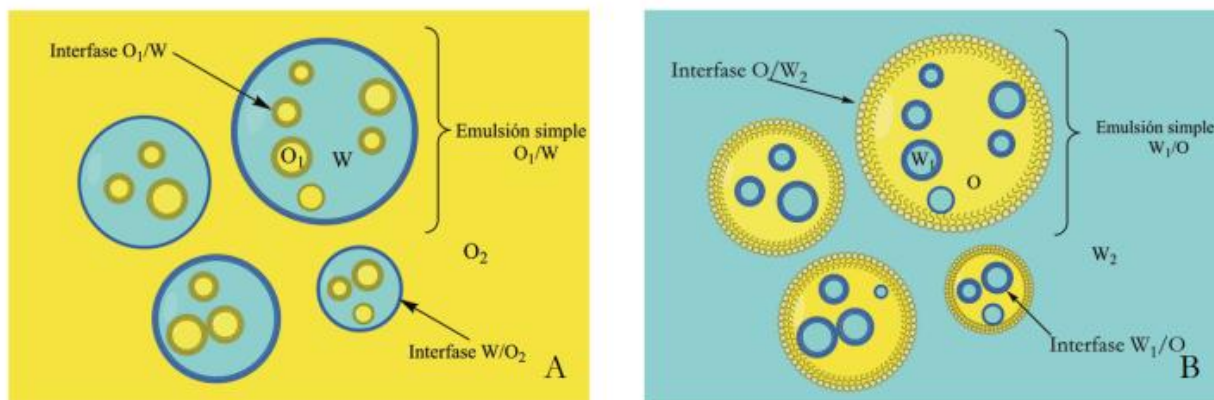


Figura 10. Representación de las ED; A ($O_1/W/O_2$) y B ($W_1/O/W_2$). (Henao & Morantes, 2012)

Obtención de las emulsiones dobles del tipo agua en aceite en agua ($W_1/O/W_2$) dividida en dos etapas (Figura 11):

Primera etapa: en esta fase se produce una emulsión de agua en aceite (W_1/O) por medio de la homogenización de una fase acuosa (W_1) y otra lipídica (O), mediante un emulsificador lipofílico con la capacidad de producir la interfase (W_1/O). En esta técnica es recomendable introducir gradualmente la fase acuosa (W_1), lo cual debe de ser mayor del 70 % para lograr una estabilidad en la emulsión (Jiménez-Colmenero, 2013a).

Segunda etapa: se forma de la homogenización de la emulsión (W_1/O) con una nueva fase acuosa (W_2) con la intervención de un emulsificador hidrofílico (O/W_2). La emulsión primaria (W_1/O) es preparado en condiciones de homogenización con mayor energía que la segunda, debido que la aplicación de procesos de homogenización más suaves evita la ruptura de los glóbulos internos (W_1/O) (Jiménez-Colmenero, 2013a).

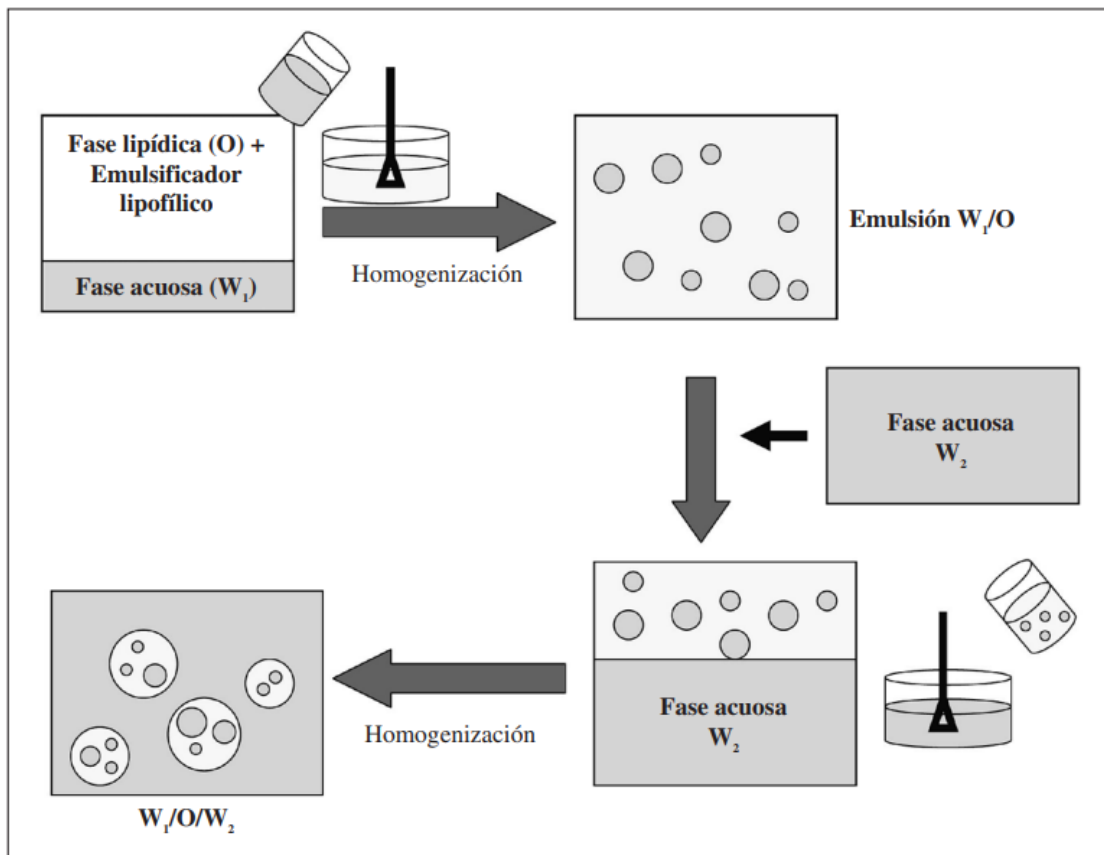


Figura 11. Elaboración de la emulsión doble del tipo ($W_1/O/W_2$) (Jiménez-Colmenero, 2013a)

2.5.2 Coacervación compleja

El término “coacervación” fue inducido en 1929 por Bungenbert de Jong y Kruyt. La palabra Coacervación se deriva del latín “acervus” que significa “montón o cúmulo” y el prefijo “co” (juntos), que indica la unión de partículas coloidales. Se clasifica en dos sistemas: coacervación simple y compleja (Weinbreck et al., 2004).

La coacervación compleja consiste en la formación de complejos de dos biopolímeros (principalmente proteínas y polisacáridos) con cargas opuestas que al unirse forman una emulsión que encapsula un material de interés. Cuando el compuesto bioactivo está rodeado por los biopolímeros (material de pared) en condiciones de pH adecuadas, donde uno de los polímeros tiene carga negativa y el otro positivo, dando como resultado ser el método de encapsulación más destacado, debido a su elevada eficiencia de encapsulación, liberación prolongada, integridad del material de la pared, así como, una mayor preservación y distribución de moléculas bioactivas (Gharanjig et al., 2020; Da Silva Soares et al., 2024).

El método de coacervación compleja también es definido como la separación de fases líquido-líquido por medio de interacciones electroestáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y de polarización inducida entre dos polímeros de cargas opuestas en un medio acuoso (Timilsena et al., 2019). El principio de esta coacervación es la separación de fases asociativa, producto de la interacción electrostática; la separación líquido-líquido produce una fase de polímero diluido (Figura 12 β) y otra rica en polímero, conocida como coacervado (Figura 12 α) (Carpentier et al., 2021). La fase con mayor polímero principalmente es un gel transitorio de polímero con cargas opuestas que temporalmente generan retículas electroestáticas (Sing, 2017), donde las interacciones entre proteínas y polisacáridos forman complejos con capacidad de mejorar las propiedades funcionales de los materiales en comparación con cada polímero constituyente de forma independiente (Carpentier et al., 2021).

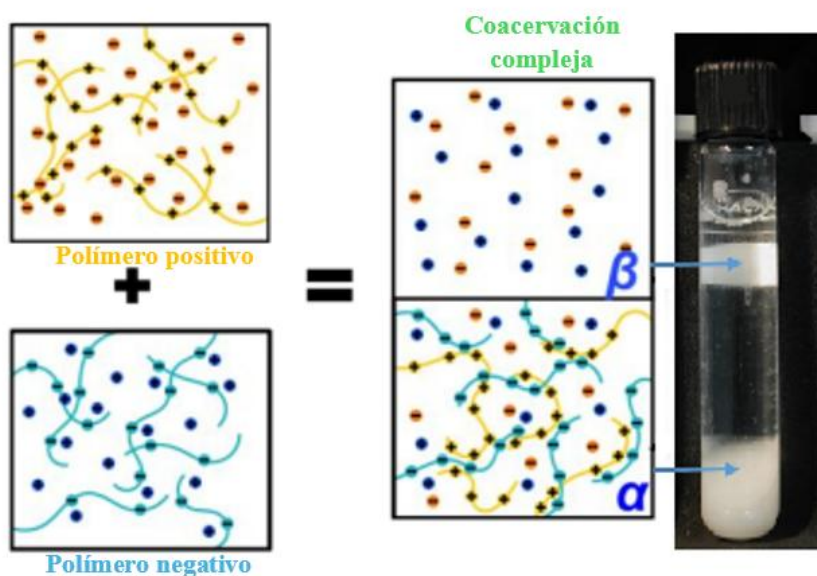


Figura 12. Diagrama de la formación de la coacervación compleja; (α) fase líquida rica en polímeros y fase líquida en deficiencia de polímeros (β). (*Espinosa-Andrews et al., 2007; Sing, 2017*)

El proceso de la elaboración de la coacervación compleja conlleva cuatro pasos importantes (Timilsena et al., 2019) (Figura 13):

- a) Realización de una disolución acuosa de dos o más polímeros. Generalmente, la disolución se elabora por encima del punto isoeléctrico de la proteína.

- b) Mezcla de la fase hidrófoba con la disolución acuosa de un polímero (usualmente disolución de proteína) y homogeneización de la mezcla resultante con la finalidad de una emulsión estable.
- c) Cambio de pH y temperatura a un nivel adecuado para la inducción de la coacervación y separación de las fases.
- d) Rigidez de las matrices de polímeros empleando temperaturas elevadas, agentes de desolvatación o reticulación.

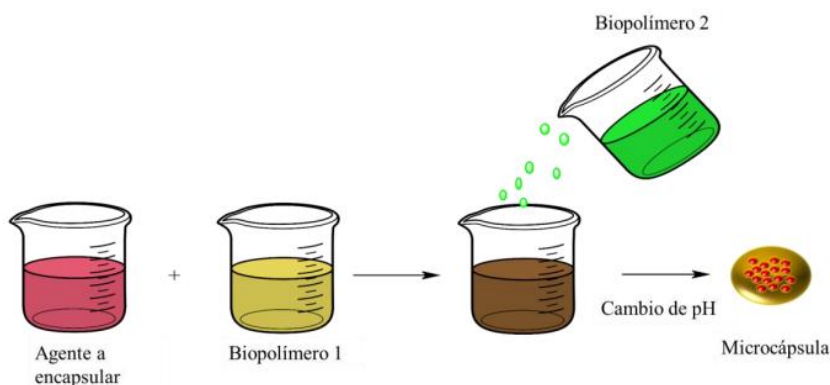


Figura 13. Etapas principales para la elaboración de la coacervación compleja. (Martínez-Gómez, 2021)

Los principales biopolímeros empleados como materiales de paredes en la coacervación compleja son proteínas como gelatinas, proteína de soya, de suero, entre otras y polisacáridos como goma arábiga, alginato y pectina (Brito De Souza et al., 2020; Gharanjig et al., 2020; Pillai et al., 2020). A cierto rango de pH, las proteínas y los polisacáridos se pueden combinar mediante atracción electrostática, debido a sus cargas opuestas; estos biopolímeros han presentado favorables propiedades funcionales, también por sus propiedades mejoradas, los complejos de proteína-polisacáridos han demostrado potenciales aplicaciones en las industrias alimentarias, agrícola, cosmética y farmacéutica (Muhoza et al., 2022).

Los principales aspectos para la encapsulación de compuestos bioactivos incluyen los materiales de la pared, técnica de encapsulación, matriz alimentaria, entre otras, los cuales intervienen en cada fase proporcionando beneficios en la salud del consumidor, además los encapsulados deben sobrevivir durante al procesamiento y almacenamiento, mantener la estabilidad tras la ingesta; tolerar condiciones ácidas, bilis y enzimas gástricas, y posteriormente adherirse, colonizar y actuar en el epitelio intestinal (Yuan et al., 2022).

2.5.2.1. Proteína de chícharo y alginato de propilenglicol como material de pared

Los compuestos proteínas-polisacáridos son biopolímeros que proporcionan beneficios en los alimentos, ya que influyen y modifican las propiedades estructurales y funcionales, como en sus características reológicas y de vida útil (Babu et al., 2024). Estudios realizados por Guo et al., (2019) descubrieron que el complejo soluble de aislado de proteína de guisante y alginato de propilenglicol favorecía la solubilidad de la proteína, la capacidad y la estabilidad de la emulsión.

Las proteínas como agentes encapsulantes tienen múltiples beneficios, al ser un material biodegradable no representan toxicidad y reacciones colaterales, además son nutricionales y liberan el material activo con mayor facilidad. Asimismo, las proteínas contienen propiedades emulsionantes, gelificantes, formación de películas y comúnmente se emplean con carbohidratos como maltodextrina, almidones, jarabe de glucosa, lactosa o sacarosa (Contreras-Martinez, 2019).

El empleo de la proteína de chícharo como biopolímero ha presentado aplicaciones potenciales en el área de alimentos, por su precio bajo, la nula alteración genética y se pueden consumir por personas con alergia a proteínas de otras fuentes. Estudios recientes demuestran que el aislado de proteína de chícharo como material de pared es un excelente protector de compuestos bioactivos en combinación de gomas y carbohidratos, como consecuencia de propiedades funcionales como la solubilidad, emulsificación y la formación de espuma (Aguilar-Vázquez et al., 2018; Warnakulasuriya et al., 2018)

Los alginatos de propilenglicol son considerados alginatos con modificaciones químicas, se producen mediante la reacción de esterificación entre ácido algínico húmedo y óxido de propileno, donde los grupos de propilenglicol se relacionan a los grupos carboxilos de los residuos de β -D-manurónico (M) y α -L-gulurónico (G). También, el alginato de propilenglicol es reconocido como un polisacárido de grado alimenticio con propiedades hidrofílicos y oleofílicos en sus grupos propilenglicol (Nilsen-Nygaard et al., 2016; Zhang et al., 2021).

El alginato de propilenglicol forma parte de uno de los polímeros con mayor preferencia para la estabilización de emulsiones ácida, debido a su baja sensibilidad ante pH bajo. Además, el alginato de propilenglicol en la elaboración de emulsiones gelificadas otorga coherencia entre las gotas de aceite y la fase continua, esto se debe a que el polímero gelificante interactúa con

la fase acuosa, lo que proporciona refuerzo mecánico al gel final y disminuye la liberación de aceite en la superficie de las emulsiones gelificadas (Nilsen-Nygaard et al., 2016).

2.6 Bioaccesibilidad de las antocianinas

La bioaccesibilidad se refiere a la cantidad de un determinado compuesto en liberarse de una matriz que está disponible para ser absorbida después de ingresar al proceso de digestión. Por ello, es importante que los componentes de interés de una matriz alimentaria se liberen y otorguen disponibilidad para su absorción en el torrente sanguíneo. El término de bioaccesibilidad está relacionada con la digestión del tracto gastrointestinal, en el cual se liberan los componentes de la matriz principal, con la finalidad de una mejor absorción en el intestino delgado (Gorusupudi & Bernstein, 2016).

Para la medición de la bioaccesibilidad, se emplean los modelos digestivos gastrointestinal *in vitro* para simular los procesos que ocurren durante la digestión humana (Burgos-Edwards et al., 2017). La digestión es el proceso metabólico que modifica los alimentos ingeridos en sustancias químicas diminutas y sencillas, fáciles de asimilar. El sistema digestivo está compuesto de órganos agrupados: boca, esófago, estómago, intestino delgado y grueso (Rivas-Montoya, 2014).

La simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* es un proceso que permite obtener diversas informaciones: digestión de alimentos, liberación de nutrientes, determinación de la absorción de alimentos, punto de liberación de ingredientes encapsulados, entre otros. Estos sistemas deben reproducir las condiciones fisiológicas en las que se produce la digestión humana, de manera flexible, preciso, reproducible y económica (Andrés-Andrés, 2019).

2.6.1 Proceso digestivo de las antocianinas

La biodisponibilidad de las antocianinas es significativamente baja, debido a que sólo el 1-2 % de las antocianinas ingeridas conservan su estructura original C6-C3-C6 en el cuerpo. La digestión de los alimentos es un proceso que depende del pH, por ello, las antocianinas sufren modificaciones, así como la hidrólisis durante la digestión por consecuencia de las enzimas (Tena et al., 2020)

La digestión gastrointestinal de compuestos fenólicos es evaluada comúnmente mediante el método gastrointestinal estático *in vitro*, descrito por Minekus et al., (2014) y modificado por

Brodkorb et al., (2019). El método gastrointestinal estático *in vitro* consiste en un proceso que consta de tres etapas: (1) fase oral simulada centrada en la actividad de la α -amilasa salival; (2) fase gástrica simulada enfocada en la actividad de la pepsina; y (3) fase intestinal que consta de un tratamiento pancreático simulado basado en pancreatina y bilis (Figura 14).

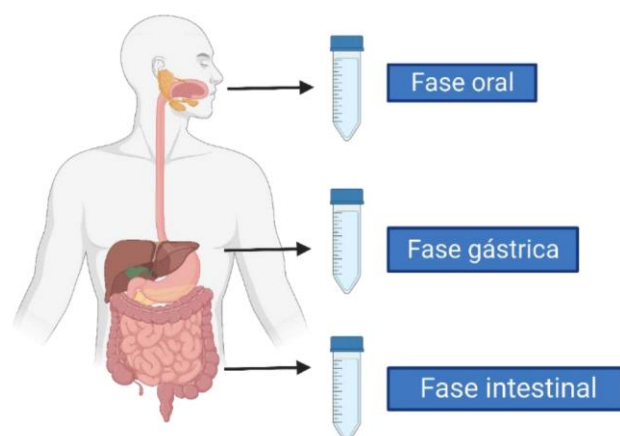


Figura 14. Fases de la digestión gastrointestinal estático *in vitro* (Brodkorb et al., 2019)

En la boca, la masticación ocasiona la descomposición de algunas células, liberando compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos o nutrientes. La trituración mecánica reduce el tamaño de las partículas y aumenta la superficie de contacto para que los micronutrientes del alimento formen el bolo alimentario al interactuar con las proteínas salivales como la α -amilasa salival. Durante la fase oral las antocianinas y los compuestos fenólicos se ingieren de forma natural, sin embargo, inicia la biotransformación, aunque el efecto de la amilasa salival sobre el bolo es limitado debido a la corta duración (2-5 minutos) de la fase oral (Kamonpatana et al., 2014; Mosele et al., 2016) (Figura 15).

Después de la fase oral, el bolo alimenticio se transporta al estómago y se mezcla con el jugo gástrico para formar el *quimo*. En la fase gástrica, el HCl activa la pepsina, lo cual, es la enzima encargada de romper los enlaces peptídicos de las proteínas, dando como resultado la presencia de aminoácidos y péptidos en los fluidos gástricos (Alminger et al., 2014). Las condiciones ácidas (pH 2.0–3.0) benefician la estabilidad de los fitoquímicos, especialmente las antocianinas, donde predomina de forma natural el catión flavilio (Cavalcante-Braga et al., 2018) (Figura 15).

Luego que los alimentos se desintegran en la boca y el estómago, la principal digestión enzimática y zona de absorción de nutrientes surgen en el intestino delgado. Después de la fase gástrica, mediante el bicarbonato de sodio el *quimo* ácido se neutraliza, proporcionando un pH adecuado para la actividad proteolítica, lipolítica y amilolítica de la pancreatina, y junto con las sales biliares son los encargados de la digestión del *quimo* en el intestino delgado (Alminger et al., 2014). Durante la digestión intestinal, las antocianinas son convertidas a su forma carbonil y chalcona debido al aumento del pH en esta etapa (7.0–7.5) (Cavalcante-Braga et al., 2018) (Figura 15).

Por otra parte en la fase intestinal la mayoría de los compuestos con bajo peso molecular, como las **proantocianidinas, ácidos fenólicos o antocianinas aciladas** todavía se liberan, junto con los componentes de la pared celular como celulosa, lignina, pectinas y algunos componentes ligados a las proteínas, y sólo una pequeña fracción continúa su proceso hasta llegar al intestino grueso o colon, donde se liberan bajo la acción de la microbiota (Pérez-Jiménez et al., 2013) (Figura 15).

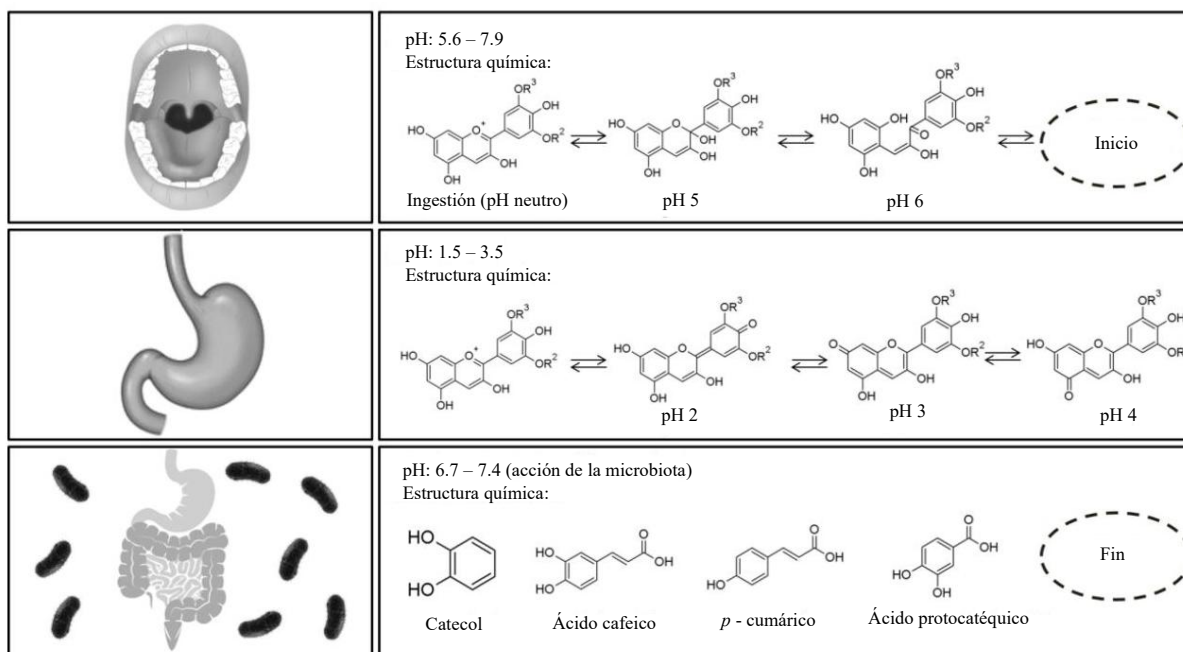


Figura 15. Estructuras de las antocianinas modificadas durante el proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*, donde: R₂=H y R₃ = Metilo (Cavalcante-Braga et al., 2018)

2.7 Técnicas de caracterización de encapsulados

2.7.1 Cuantificación de antocianinas totales

El pH es considerado como uno de los principales factores que afectan la estabilidad del color de las antocianinas, por lo tanto, para determinar si las antocianinas están polimerizadas o no, se emplean los espectros de UV - VIS a diferentes niveles de pH (Giusti & Wrolstad, 2001). Para la concentración de antocianinas se determina mediante la absorción a una diferencia de pH, debido a que las antocianinas proporcionan dos bandas de absorción en la región que oscila entre 490 y 550 nm en la región del espectro visible.

El método del pH diferencial propuesto por Giusti & Wrolstad, (2001) estima el contenido de antocianinas totales, se fundamenta por el cambio reversible que ocurre en los pigmentos monoméricos de antocianinas mediante la variación del pH y son medidas en dos bandas de absorción en la región UV – VIS a longitudes de onda de 510 nm y 700 nm, donde, las muestras son diluidas con un buffer a pH 1.0 y 4.5, por lo tanto, a un pH de 4,5 la antocianina se encuentra en su forma hemiacetal incolora, mientras que a un pH de 1.0, la antocianina absorbe la luz muy fuertemente entre 460 y 550 nm debido a que se encuentra en su forma de oxonio coloreada (Figura 16). Por lo que, la absorbancia a 520 nm es proporcional a la concentración de pigmento.

Para sus lecturas se utiliza un espectrofotómetro de UV – VIS con longitudes de onda de 510 nm y 700 nm. Los resultados se expresan como pigmentos de antocianinas monoméricas, generalmente expresado como cianidina 3 - glucósido.

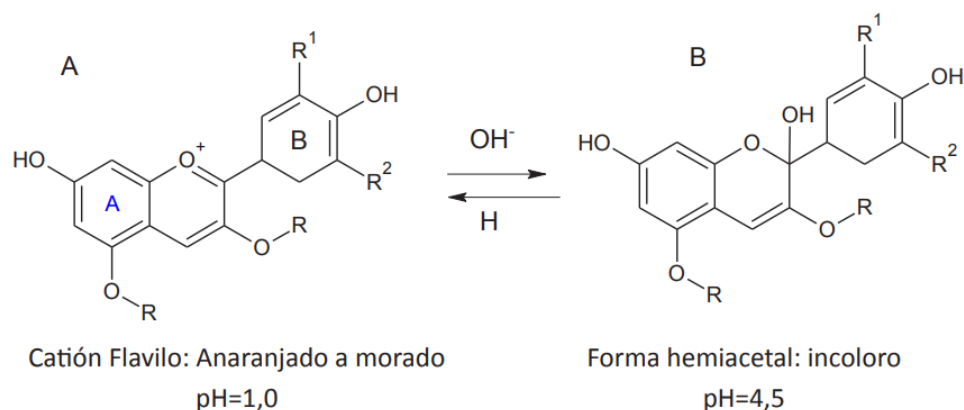


Figura 16. Estructuras del catión flavilio (A) y la forma hemiacetal (B). R= H o sustituyente glicosídico (León *et al.*, 2015).

2.7.2 Cuantificación de compuestos fenólicos

El método de Folin-Ciocalteu fue creado en 1927 por Otto Folin y Vintila Ciocalteu con la finalidad de cuantificar la tirosina y el triptófano en proteínas, también ha sido empleado como protocolo estándar para la cuantificación de compuestos fenólicos totales en tejidos vegetales y alimentos de origen vegetal (Folin & Ciocalteu, 1927). Para la determinación de compuestos fenólicos totales, el reactivo de Folin-Ciocalteu (una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico) disminuye en medio alcalino (pH 10) con carbonato de sodio, debido a la disociación del protón fenólico que conduce a la formación del ion fenolato, de igual manera, se debe a la reacción que ocurre con el añadido del carbonato de sodio, óxidos azules de tungsteno y molibdeno (Martins et al., 2021) y produce un cambio de color que va del amarillo al azul, la intensidad del color azul es medido en el espectrofotómetro de UV - VIS a una longitud de 765 nm y es directamente proporcional a la concentración del antioxidante (Figura 17) (Ainsworth & Gillespie, 2007; Ford et al., 2019).

La molécula comúnmente empleada en el método de Folin-Ciocalteu para la expresión de los resultados en datos cuantitativos es el ácido gálico y generalmente son representados en equivalentes de ácido gálico (GAE) por unidad de muestra. El método de Folin-Ciocalteu puede clasificarse como un ensayo basado en la transferencia de electrones, ya que, mide la capacidad de reducción de una sustancia frente a un agente oxidante, ocasionando la reducción del color principal (amarillo) (Cömert & Gökmen, 2018).

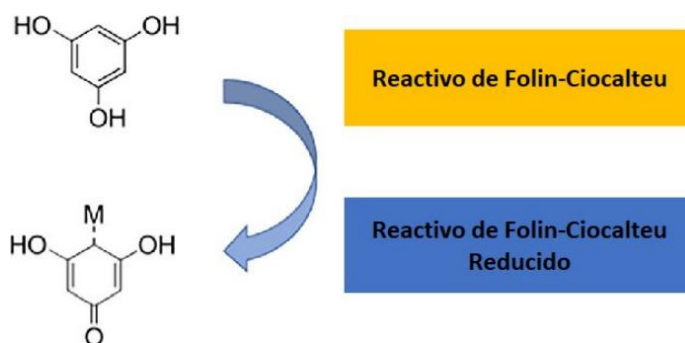


Figura 17. Reducción del reactivo Folin-Ciocalteu y producción del cambio de color a azul, debido a la concentración del antioxidante (Ford et al., 2019).

2.7.3 DPPH•

El ensayo DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un método eficaz, empleado para la evaluación de la actividad antioxidante, se basa en la reducción del radical DPPH• (un cromógeno de color púrpura) a su hidracina correspondiente (DPPH-H, color amarillo) cuando reacciona con los antioxidantes (donadores de hidrógeno o electrones) (Figura 18). La capacidad antioxidante se mide determinando el DPPH• remanente, mediante (Álvarez-Parrilla et al., 2012):

- 1) Espectrofotometría, a una longitud de onda desde 515 nm a 528 nm, donde se mide la decoloración que surge en la reacción, debido a la adición del antioxidante en la solución metanólica o etanólica de DPPH•.
- 2) ESR, aquí la intensidad de señal que transmite el DPPH• está inversamente relacionado con la concentración de antioxidante y el tiempo en que ocurre la reacción.

La reacción del radical DPPH• se aprecia en la Figura 18; también se puede comprender de la siguiente manera: la reacción que representa al radical DPPH es Z y la molécula donadora AH, la reacción primaria es: $Z\cdot + AH = ZH + A\cdot$. Donde, se obtiene que ZH es la forma reducida y $A\cdot$ representa al radical libre producido. El DPPH• es método utilizado para cuantificar la capacidad antioxidante de jugos de frutas y vegetales, asimismo, es empleado en investigaciones como las propiedades de diversos alimentos, como es el caso de granos de trigo y salvado, hierbas, aceites de semillas comestibles, ácido linoleico y harinas en diferentes sistemas de solventes incluyendo etanol, metanol, acetona y benceno (Kedare & Singh, 2011).

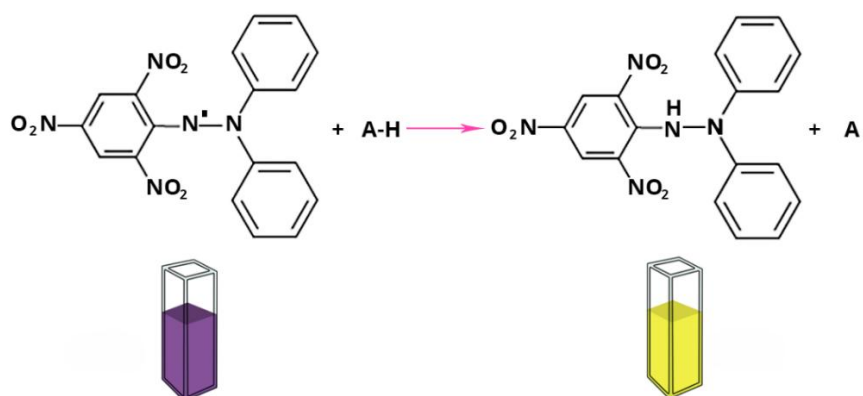


Figura 18. Inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) ocasionada por los antioxidantes.

Fuente: <https://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe>

2.8 Investigaciones recientes de la digestión gastrointestinal *in vitro* de microencapsulados por coacervación compleja

En la tabla 11 se aprecian investigaciones recientes de diversos autores sobre la digestión gastrointestinal *in vitro* de diferentes partes de los vegetales y frutas empleando distintos agentes de microencapsulación.

Tabla 11. Estudios recientes de la digestión gastrointestinal *in vitro* de microcápsulas mediante coacervación compleja.

Material vegetal	Biopolímeros empleados	Hallazgos más importantes	Biodisponibilidad o cinética de liberación.	Autor
Extractos de <i>Haematococcus pluvialis</i> ricos en astaxantina	• Goma arábica con proteína de chícharo (1:2) • Goma arábica con proteína de cáñamo (1:2) • Quitosano con proteína de chícharo (1:2) • Quitosano con proteína de cáñamo (1:2)	• Los cuatro tratamientos de microcápsulas presentaron mayor estabilidad con una humedad entre 88 – 92 % a 4 °C. • La eficiencia de microencapsulación se determinó mediante espectrofotometría y los cuatro tratamientos mostraron eficiencia de microencapsulación superiores al 80 %. • Mediante microscopía óptica petrográfica se evaluó la morfología-tamaño de partícula, donde las microcápsulas resultaron esféricas y con apariencia rugosa. En tamaño de partícula los tratamientos se encontraron en un intervalo de 6.62 ± 1.45 a $26.91 \pm 8.32 \mu\text{m}$ y los tratamientos con cáñamo presentaron mayor tamaño.	• La biodisponibilidad de las microcápsulas de astaxantina del tratamiento goma arábica-proteína de cáñamo fue del 100 % • La biodisponibilidad de las microcápsulas de astaxantina del tratamiento goma arábica-proteína de chícharo fue del 100 % • La biodisponibilidad de las microcápsulas de astaxantina del tratamiento quitosano-proteína de chícharo fue del 15.2 % • La biodisponibilidad de las microcápsulas de astaxantina del tratamiento quitosano-proteína de cáñamo fue del 48.6 %	Martínez-Gómez, (2021)

Arroz negro (<i>Oryza sativa</i> L.)	Gelatina con goma de acacia (1:1) y quitosano-carboximetilcelulosa (5:1)	• Se emplearon dos tratamientos de microcápsulas mediante secado por aspersión y liofilización. • Las microcápsulas presentaron una eficiencia entre 84.9 % y 94.7 %, en donde el tratamiento con quitosano-carboximetilcelulosa mostraron mayor eficiencia en comparación al tratamiento gelatina con goma de acacia, al igual que, las microcápsulas de emulsión doble secadas por aspersión, sin embargo, éstas presentaron un menor contenido de humedad e higroscopicidad. • Demostraron que las microcápsulas de gelatina con goma de acacia y quitosano-carboximetilcelulosa realizadas mediante liofilización tuvieron mayores contenidos de antocianinas totales y fenólicos totales.	• Se encontró liberación controlada por difusión en el líquido gástrico simulado para las microcápsulas secadas por aspersión, mientras que para las microcápsulas por secado por aspersión y liofilización se logró tener un mejor ajuste de la cinética de liberación mediante el empleo de los modelos de primer orden e Higuchi. • Se obtuvo una liberación controlada mediante difusión en el líquido gástrico simulado para las microcápsulas secadas por aspersión, a diferencia de la liberación controlada por erosión en fluidos gástricos e intestinales simulados donde predominó las microcápsulas liofilizadas.	Kanha et al., (2021)
Arándano azul (<i>V. corymbosum</i> L.)	Cápsulas comerciales (Tipo 00) de gelatina bovina	• Las condiciones de la fase gástrica otorgan una mayor estabilidad de los compuestos fenólicos en arándanos en polvo y cápsulas lo que para esta fase	• Entre el arándano fresco, polvo y las encapsuladas, se obtuvo baja bioaccesibilidad durante la digestión gastrointestinal,	Tánori-Encinas et al., (2022)

		pudiera ser importante para el mantenimiento de un ambiente antioxidante. • Se demostró que las condiciones de la fase intestinal afectaron de manera particular a los compuestos fenólicos de arándano fresco y polvo, a diferencia de las cápsulas, a pesar de que estuvo en condiciones alcalinas, presentó mayor contenido de fenoles debido a la protección que le otorgó la encapsulación	debido a que las condiciones del compuesto ingerido tienen poca estabilidad a los cambios de pH y sales después de la ingesta oral. • En la fase gástrica de la digestión se obtuvo una mayor bioaccesibilidad en los polvos y cápsulas de arándanos, donde se demostró bioaccesibilidad en fenoles (42 % y 40 %), flavonoides (52 % y 33 %) y antocianinas (45 % y 40 %) en comparación con los digestos de arándano fresco. • En la fase intestinal de la digestión presentaron mayor bioaccesibilidad las cápsulas de arándanos en comparación con los arándanos en polvo, donde se demostró la bioaccesibilidad de los fenoles (63%) y flavonoides (67%).	
--	--	--	---	--

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos encapsulados por coacervación compleja de *C. cainito* mediante un sistema gastrointestinal *in vitro*.

3.2 Objetivos específicos

Determinar la bioaccesibilidad *in vitro* de antocianinas totales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante DPPH de microcápsulas de *C. cainito* L obtenidos por coacervación compleja.

4. JUSTIFICACIÓN

El *C. cainito*, conocido como caimito, es una fruta tropical de consumo regional, cultivada comúnmente en la Península de Yucatán, México; sin embargo, la cáscara de esta fruta es considerada como un residuo que representa el 53.4 % del peso total. La cáscara de caimito es una fuente de compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos y antocianinas. Por lo tanto, la cáscara tiene alto potencial para su aprovechamiento en la industria como fuente de ingrediente bioactivo o aditivo para impartir propiedades antioxidantes y de color.

Estudios realizados por Ku-Canul, (2021) demostró que la estabilidad de los extractos de antocianinas de la cáscara de caimito se ve afectada por la alta temperatura, provocando una disminución del tiempo de vida media a 1.19 ± 0.15 d y aumentando su velocidad de degradación a 0.58 ± 0.07 d. Asimismo, Santos-Cervera, (2023) demostró que la estabilidad del extracto de antocianinas de la cáscara de *C. cainito* se vio afectado por el efecto combinado de la temperatura y el pH, en donde a temperaturas superiores de 60 °C se experimentó una disminución del tiempo de vida media a 4 h, mientras que, a valores de pH inferiores a 3.1, la velocidad de degradación del extracto de antocianinas aumentó a 6 h. Por lo tanto, las variables de temperatura y pH son factores con efecto significativo en la estabilidad de las antocianinas extraídas de la cáscara de *C. cainito*.

Se ha reportado una menor biodisponibilidad de los compuestos bioactivos, como ocurre con las antocianinas, debido que al momento de ingerirlas solo el 1-2 % mantiene su estructura original en el tracto gastrointestinal. La digestión gastrointestinal *in vitro* es un método reproducible, con variaciones en el pH de cada etapa, lo que ocasiona que las antocianinas sufran modificaciones o hidrólisis mediante la digestión enzimática en cada etapa (Tena et al., 2020). En los últimos años, los extractos de compuestos bioactivos (aceites, antocianinas, carotenoides, flavonoides etc.) con menores tasas de bioaccesibilidad se han microencapsulado utilizando diversos procesos como la liofilización, secado por aspersión y coacervación (simple o compleja). La microencapsulación es una estrategia prometedora para proporcionar protección, estabilidad, liberación controlada y una mayor conservación de compuestos bioactivos mediante el empleo de agentes encapsulantes como los biopolímeros, los cuales funcionan como una capa protectora ante los fenómenos de deterioro. La coacervación compleja es uno de los métodos con mayor empleo en la microencapsulación de compuestos bioactivos debido a su simplicidad,

su bajo costo, la elevada eficiencia de encapsulación, así como la liberación controlada de sustancias encapsuladas a altas temperaturas (Nezamdoost-Sani et al., 2024). Los agentes encapsulantes empleados tienen múltiples beneficios, al ser un material biodegradable y de origen natural, no representan toxicidad y reacciones colaterales, además tienen propiedades nutricionales, fáciles de adquirirlos y liberan el material activo con mayor facilidad (Contreras-Martinez, 2019).

Por tal motivo, este trabajo tuvo como objetivo evaluar la bioaccesibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos de *C. cainito* encapsulados por coacervación compleja, para determinar el porcentaje de retención de estos compuestos bioactivos durante cada fase del aparato digestivo simulado.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Estrategia general de trabajo

De acuerdo con los objetivos de la investigación, en el presente trabajo se obtuvieron microcápsulas utilizando una mezcla de nuevos polímeros para encapsular compuestos fenólicos extraídos de las cáscaras del fruto de *C. cainito*. Los encapsulados se sometieron a un estudio de simulación gastrointestinal *in vitro* que consistió en 3 fases: oral, gástrica e intestinal.

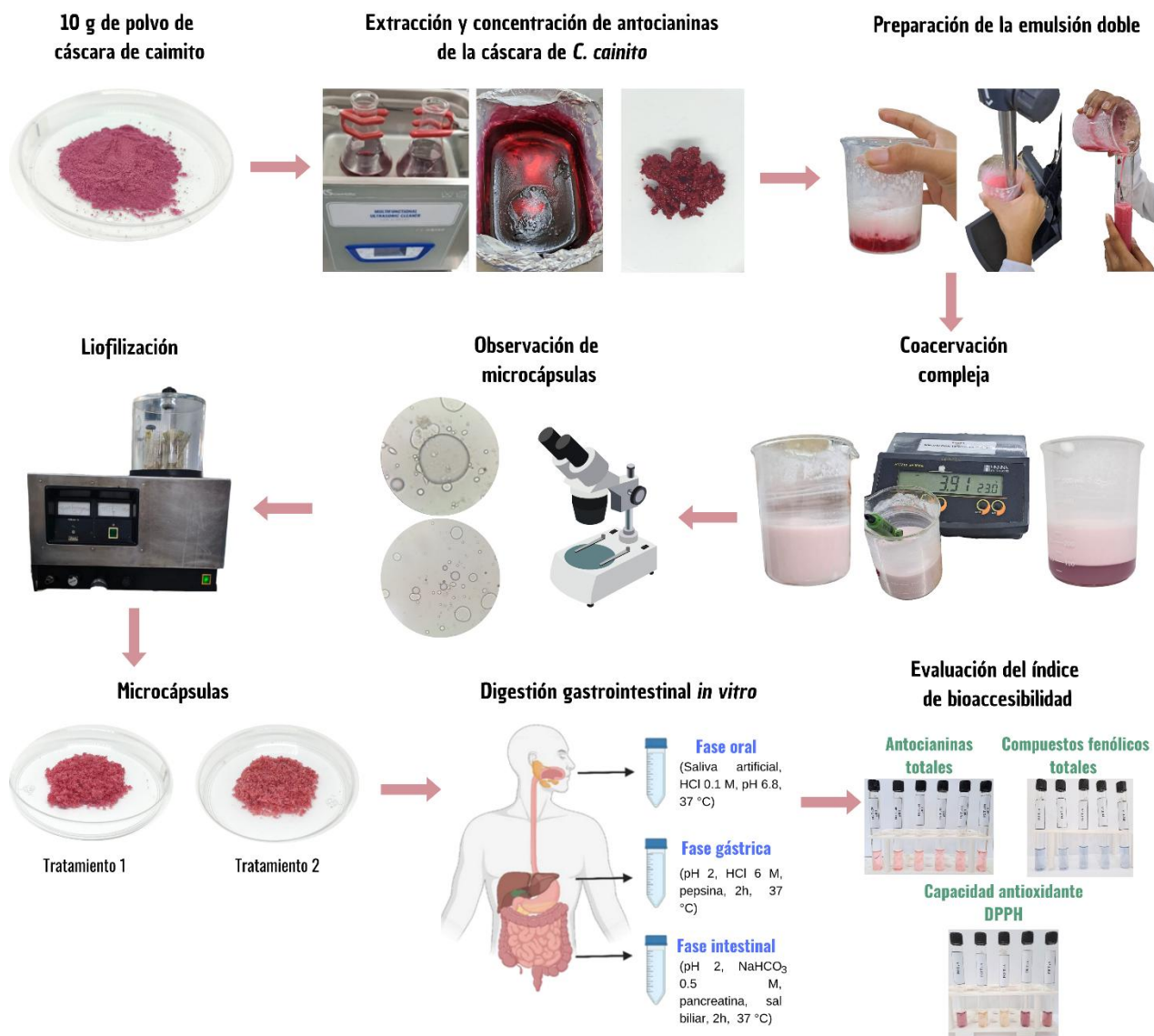


Figura 19. Estrategia general de trabajo.

5.1. Reactivos químicos

Cloruro de potasio (KCl) (Sigma-Aldrich) - Acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$) (Sigma-Aldrich) - Metanol (CH_3OH) grado HPLC (J.T Baker) - Ácido clorhídrico (HCl) (J.T Baker) - Cloruro de potasio (KCl) (Meyer) - Span 60 (Droguería-Cosmopolita), - Fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) (Sigma-Aldrich) - Fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) (Sigma-Aldrich) – Pepsina de mucosa gástrica porcina (≥ 400 units/mg proteína) (Sigma-Life Science) – α -amilasa de páncreas porcina (≥ 10 units/mg sólido) (Sigma- Life Science) - Los otros reactivos fueron de grado analítico.

5.2. Extracción y concentración de antocianinas de la cáscara de *C. cainito*

El polvo de la cáscara liofilizada fue proporcionado por el Laboratorio de Desarrollo de Alimentos del Instituto Tecnológico de Mérida. Para la extracción de antocianinas de la cáscara de *C. cainito* se realizó empleando un baño ultrasónico (MCA CScientific, CS-UB100) de 10 L, equipado con un control digital para temperatura, tiempo y amplitud ultrasónica. Las condiciones de extracción fueron, 30 °C durante 30 min y 30 % de amplitud ultrasónica. La cáscara liofilizada de caimito (10 g) se mezcló con 200 mL de una solución de etanol al 70 % acidificado con HCl al 1 %. La solución se homogeneizó con agitación magnética a 25 °C y se sonicó siguiendo las condiciones previamente descritas. Al término de la extracción, la mezcla se mantuvo 30 min en agitación magnética, y posteriormente se filtró con papel Whatman No. 1. El etanol se eliminó empleando un rotavapor al vacío a 55 °C para lograr la concentración del extracto hasta alcanzar 50 mL. El extracto se centrifugó durante 10 min a 4,000 rpm y se recuperó el sobrenadante. Finalmente, el extracto obtenido se aforó a 45 mL y se mantuvo a -20 °C para su uso posterior.

5.3. Preparación de microcápsulas de antocianinas utilizando emulsión doble seguido de coacervación compleja

La emulsión primaria (W1/O) se preparó siguiendo el procedimiento descrito por Devi et al., (2023) y Kanha et al. (2021) con ciertas modificaciones y ensayos preliminares. El aceite de soya (55 g) se mezcló con 5 g de span 60 (emulsificante lipofílico) por medio de agitación magnética a 70 °C durante 10 min. Después, la mezcla se dejó enfriar hasta 40 °C y se homogeneizó a 14, 000 rpm durante 2 min mediante un equipo de dispersión Ultraturrax IKA®

T-18 digital. Luego, se pesaron 45 g de extracto concentrado de antocianinas, se añadió a la mezcla de aceite de soya con span 60 y se mantuvo en agitación magnética hasta alcanzar 45 °C. Finalmente, la mezcla resultante se homogeneizó en Ultraturrax a 13,000 rpm durante 2 min.

Los emulsificantes hidrofílicos se mezclaron en una proporción 1:1 (1.0 y 1.5 % p/v de solución proteína de chícharo PCH y 1.0 % y 1.5 % p/v de alginato de propilenglicol ALGP) mediante agitación magnética a 50 °C durante 30 min. La solución se mantuvo a 40 °C en un baño de agua con control de temperatura para posterior uso.

La emulsión W/O (100 mL) se dispersó en el emulsificante hidrofílico (200 mL) mediante agitación magnética a 40 °C durante 10 min a 600 rpm, mientras que el pH de la mezcla se ajustó a 5.0 con NaOH al 10 %. Los tratamientos por duplicado se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12. Tratamientos de microencapsulación de antocianinas a distintas concentraciones de polímeros y volumen de emulsión

Tratamiento	Concentración de polímero (%)	Solución emulsión (núcleo) (mL)	Proteína de chícharo (mL)	Alginato de propilenglicol (mL)
T1-100	1.0	100	100	100
T2-100	1.5	100	100	100

Las microcápsulas coacervadas se obtuvieron por el ajuste del valor de pH de la mezcla a 3.5 y 40 °C, empleando una solución de HCl (1 M) con agitación magnética constante durante 30 min. Después, la suspensión se enfrió por debajo de 10 °C en un baño de hielo durante 2 h y luego se agregaron 250 mL de una solución de maltodextrina al 32 % (p/v) con agitación magnética a 600 rpm durante 5 min para la producción de emulsiones W1/O/W2. La emulsión doble se almacenó a -20 °C durante 48 h y se liofilizaron utilizando un equipo Edwards High Vacuum, operado a -42 °C, y 0.013 mBar durante un período de 72 h. Las muestras liofilizadas se molieron con un procesador de alimentos Nutribullet® por 30 s y se almacenaron en bolsas Ziploc protegidos de la luz a -20 °C para caracterizaciones adicionales.

5.4. Obtención de extractos de antocianinas en los microencapsulados (ATE)

Para la extracción de las microcápsulas de antocianinas, se pesaron 500 mg de encapsulados o 100 mg de extracto seco y se depositaron en tubos centrífugos de 15 mL y mezclados con 5 mL (medir con probeta) de una solución que contiene metanol:ácido clorhídrico:agua destilada (50:1:49, v/v/v). La mezcla se agitó en un vórtex durante 10 s y se colocó en un baño de ultrasonido durante 30 min (25 °C y 100 % de amplitud), luego centrifugado durante 10 min a 4,000 rpm y entonces, se recuperó el sobrenadante y se colocó en un tubo centrífugo de 15 mL. El sedimento (pellet) se sometió a otra extracción siguiendo el mismo procedimiento usando la microespátula para re-disolver el pellet. Después, ambos sobrenadantes (de las dos extracciones sucesivas) se juntaron y se centrifugaron (A 4,000 rpm durante 10 min) para la recuperación del sobrenadante. El sobrenadante se aforó a 10 mL con el mismo disolvente de extracción (metanol:ácido clorhídrico:agua destilada). Finalmente, el extracto de las microcápsulas fue congelado a -20°C hasta su uso. El contenido de ATE se determinó por el método de pH diferencial.

5.5. Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*

En la Tabla 13 se aprecia la composición de cada fase de la digestión gastrointestinal *in vitro* para la evaluación de la estabilidad de los compuestos fenólicos de los encapsulados

Tabla 13. Composición de las fases (oral, gástrica y duodenal) de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Etapa digestión oral	Etapa digestión	
	gástrica	Etapa digestión duodenal
100 mL agua destilada	1.6 mL de HCl 6M	22.5 mL de NaHCO_3 0.5 M
8.96 g KCl	15 mL pepsina (en HCl)	10 mL pancreatina
2.0 g KSCN		1 mL sal biliar simulado
8.88 g NaH_2PO_4		
5.7 g Na_2SO_4		

17.53 g NaCl

8.47 g NaHCO₃

2.5 g Urea

100 mg mucina

18 gotas de HCl 6 M

1.0 g alfa-amilasa

pH= 7.0

pH=2.0

pH=7.0

La digestión gastrointestinal *in vitro* (oral, gástrica e intestinal) fue realizado mediante la metodología descrita por Raiola et al., (2012) y modificado por Tenore et al., (2015). En la fase oral, 10 g de encapsulados o 1 g de extracto seco fue mezclada con 5 mL de solución de saliva simulada (KCl, 89.6 g/L; KSCN 20 g/L; NaH₂PO₄ 88.8 g/L; Na₂SO₄ 57 g/L; NaCl 175.3 g/L; NaHCO₃ 84.7 g/L; Urea 25 g/L; Mucina 1 g/L; α -amilasa (A3176), ≥ 10 U /mg sólido) más 40 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 6.8 con 7 mL de HCl 0.1 M (medidor de pH Hanna instruments 2210). La mezcla se mantuvo en agitación magnética (150 rpm) hasta alcanzar los 37 °C (35 a 38 °C) durante 10 min (medición de volumen) (se tomó una alícuota de 2 mL). En la fase gástrica, la muestra digerida con saliva simulada fue ajustado a un pH= 2 (1.8 a 2.2) con 1.6 mL de HCl 6 M, luego, se añadió 15 mL de solución de pepsina (P7125-500G) (1.08 g disuelto en 100 mL de HCl 0.1M) con posterior incubación durante 2 h a 37 °C a 150 rpm (medición de volumen) (se tomó alícuota de 2 mL a 20, 40, 60, 80, 100 y 120 min). En las condiciones del intestino delgado, el pH de la muestra fue ajustado a 7.0 (6.7 a 7.2) con 22.5 mL de NaHCO₃ 0.5 M, después, se agregó 10 mL de pancreatina (P1750-500G) (0.8 g disuelto en 100 mL de NaHCO₃ 0.5 M) más 1 mL de sal biliar simulado (López De Lacey et al., 2012) (Tabla 14). La mezcla fue incubada con agitación a 150 rpm durante 2 h a 37 °C (medición de volumen) (se tomó alícuota de 2 mL a 20, 40, 60, 80, 100 y 120 min).

Tabla 14. Composición de la sal biliar (simulado)

Formulación

100 mL agua destilada	0.11 g Colesterol
0.85 g NaCl	0.67 g Taurocholate
0.028 g CaCl ₂	0.1 g Lecitina
0.035 g KCl	Se ajustó pH a 6.8 con HCL 0.1 M

Agitación durante 1 h a 37 °C.

5.5. Métodos analíticos

5.5.1 Determinación de antocianinas totales

La concentración de antocianinas totales se determinó por el método de pH diferencial reportada por Giusti & Wrolstad, (2001) donde la antocianina experimenta una transformación reversible en función del pH manifestado por cambio en la absorbancia, la forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5 (Paulino, 2017). Se utilizaron dos sistemas de buffer: cloruro de potasio (pH 1.0) y acetato de sodio (pH 4.5). Se tomó una alícuota de 1000 µL del extracto de compuestos y se diluyó en 4.0 mL de las respectivas soluciones buffer de manera independiente en tubos de ensayo (se mezcló con vórtex por pocos segundos), obteniendo un volumen final de 5 mL en cada muestra. Las muestras se dejaron en reposo durante 15 min a 25 °C protegidas de la luz (tubos envueltos con papel aluminio), posteriormente, se realizó la lectura de absorbancia de la solución en un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Technologies Cary 60 a las longitudes de onda de 520 y 700 nm, empleando agua destilada como blanco.

Para el cálculo de concentración de antocianinas monoméricas se empleó la ecuación 1.

$$\text{Antocianinas monoméricas} : \frac{(A)(PM)(FD)(1000)(V)}{(\epsilon)(1)(P)} \quad (1)$$

Donde:

A= Absorbancia

PM= peso molecular (449.2 g/mol correspondiente a la cianidina 3 glucósido)

FD= Factor de dilución (relación entre el volumen total y volumen de alícuota adicionado al buffer).

ε =Coeficiente de extinción molar (26,900 L* $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ para cianidina 3 glucósido)

V= volumen total de extracto en L.

P=Peso de polvo seco (g)

El valor final de la absorbancia se obtuvo aplicando la fórmula 5

$$A = (A_{\text{max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1} - (A_{\text{max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5}$$

A max = Absorbancia mayor obtenida a pH 1 y pH 4.5 (520 nm)

A 700= Lectura a 700 nm a pH 1 y pH 4.5.

l=Ancho de la celda en cm

Los resultados fueron expresados en mg equivalentes a cianidina-3-glucósido/g de polvo seco PS.

5.5.2 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) se determinó de acuerdo con el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965) con ciertas modificaciones. Una alícuota de 50 μL de extracto (preparación de un blanco con 50 μL de sólo disolvente sin extracto) se mezcló con 3 mL de agua destilada en un tubo de ensayo y luego, a la mezcla se adicionaron 250 μL del reactivo Folin-Ciocalteu (1N) utilizando un vórtex durante pocos segundos. Posteriormente, a la mezcla anterior, se agregaron 750 μL de una solución carbonato de sodio (20 % p/v en agua destilada) y 950 μL de agua destilada mezclando en un vórtex durante pocos segundos. Los tubos con sus respectivas muestras se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente (protegidos de la luz) y se midió la absorbancia de la solución a 765 nm contra un blanco del disolvente utilizado para la extracción de los compuestos con un espectrofotómetro Uv-Vis Agilent Technologies Cary 60. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico EAG/100 g de polvo liofilizado. La curva de calibración se realizó con concentraciones conocidas entre 100 y 1000 ppm de ácido gálico.

5.5.3 Capacidad antioxidante DPPH

La evolución de la actividad antioxidante de los extractos se determinó empleando la metodología de (Brand-Williams et al., 1995). La solución stock se preparó mezclando 0.003 g de radical DPPH con 90 mL de metanol absoluto en un matraz Erlenmeyer bajo agitación magnética durante 30 min a 25 °C. Se midió la absorbancia de la solución (515 nm) del radical y en función del valor de la absorbancia, se ajustó dicho valor a una absorbancia entre 0.650 y 0.750, añadiendo 10 mL de metanol y agitando durante 10 min hasta alcanzar el valor de la absorbancia deseable (0.7). Como blanco del espectrofotómetro se utilizó metanol absoluto. El ensayo se realizó tomando una alícuota de 100 µL de extracto o muestra y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 3.9 mL de solución de radical DPPH con absorbancia ajustada. La disminución de la absorbancia de la muestra a 515 nm fue medido a intervalos de 1 min por 5 min, luego cada 5 min hasta lograr la estabilidad utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Angilet Technologies Cary 60. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la ecuación 2:

$$\frac{\text{absorbancia}_{\text{control}} - \text{absorbancia}_{\text{muestra}}}{\text{absorbancia}_{\text{control}}} \times 100 \quad (2)$$

El resultado fue expresado como mM trolox (ET) / g de polvo seco, empleando una curva de calibración con concentraciones entre 100 y 1000 µM ET/L.

5.5.4. Índice de bioaccesibilidad

La bioaccesibilidad (%) se determinó empleando la metodología de Tánori-Encinas et al., (2022) como la proporción entre la concentración del componente bioactivo de cada fase de la digestión (sobrenadantes) y el contenido antes de la hidrólisis. Los resultados fueron expresados en términos de porcentaje (B %).

Para el cálculo de la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos, antocianinas y antioxidantes se empleó la ecuación 3:

$$\% \text{ Bioaccesibilidad } in \text{ vitro: } \frac{\text{Contenidos de compuestos fenólicos o capacidad antioxidante de la mezcla de cada fase}}{\text{Contenidos de compuestos fenólicos o capacidad antioxidante de muestras* previo a la digestión}} \times 100 \quad (3)$$

* Cáscara de *C. cainito*, extracto seco y microcápsulas obtenidas mediante T1 y T2.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Índice de bioaccesibilidad (IB) de antocianinas totales (AT)

La bioaccesibilidad se relaciona con la liberación de los compuestos bioactivos a partir de la matriz alimentaria debido al efecto de hidrólisis de las enzimas digestivas (amilasas, proteasas, etc.), lo que permite el paso de algunos compuestos hacia la absorción del tracto gástrico. Asimismo, la bioaccesibilidad depende del tipo de matriz de los alimentos, la interacción de las macromoléculas, así como de las condiciones fisiológicas como los cambios en el pH y temperatura (Perales-Vázquez et al., 2020).

La bioaccesibilidad de las antocianinas y los compuestos fenólicos influyen significativamente en la salud, por tal motivo, después de su consumo, sus componentes experimentan cambios a lo largo del tracto digestivo, tales como, metabolización, absorción y eliminación (Ayvaz et al., 2022).

La Figura 19 muestra el índice de bioaccesibilidad (oral, gástrica inicial-final e intestinal inicial-final) de antocianinas totales solubles de la cáscara de *C. cainito*, extracto seco y de las microcápsulas obtenidas mediante T1 (1 %) y T2 (1.5 %).

Se encontró una alta variación del índice de IB de AT dentro de cada fase digestiva simulada por tipo de muestra analizada. De manera general, el valor de IB de las muestras fue mayor para las fases FGI y FGF en comparación a FO y FII.

Los hallazgos indican que el valor del IB de antocianinas en la FO resultó mayor para la microcápsula T1 (56.76 %), seguido por T2 (43.99 %), cáscara liofilizada (26.31 %) y el extracto seco de *C. cainito* (4.82 %). La alta liberación de antocianinas totales solubles en la fase oral se relaciona con el grado de hidrólisis enzimática que ocurre en la cavidad bucal, catalizada por la enzima α -amilasa presente en la saliva artificial (Mosele et al., 2016). La α -amilasa es una enzima digestiva, originada en las glándulas salivales y en el páncreas, su principal función es hidrolizar los enlaces glucosídicos del almidón, para liberar azúcares simples (Akinfemiwa et al., 2025). La alta variación del % IB entre el T1 y T2 de la FO se explica por la diferencia en la concentración de polímeros de las microcápsulas, siendo T2 la microcápsula que obtuvo la mayor concentración de ALGP y PCH (1.5 % ambos polímeros). La concentración del polímero es un factor que puede influir en la capacidad de carga y la eficiencia de la microencapsulación; además de afectar la estabilidad y la liberación controlada de los compuestos bioactivos (Sharma

et al., 2016). Se cree que la alta concentración de agentes encapsulantes mejora el movimiento de moléculas a la vez que mejora las interacciones por sus cargas y disminuyen la tasa de liberación de AT, como el caso de T2 (Eghbal & Choudhary, 2018). Por lo tanto, una mayor concentración de polímeros puede aumentar la viscosidad de la solución, retrasar la dispersión del material encapsulante, reducir la capacidad de carga y reducir la liberación de las antocianinas. Asimismo, la alta viscosidad y la rápida solidificación de la fase dispersa pueden disminuir la porosidad de las microcápsulas y, por lo tanto, mejorar la eficiencia de encapsulación. Por el contrario, una menor concentración de polímeros puede influir en la morfología de las microcápsulas, dando lugar a superficies porosas, mayor capacidad de carga y una liberación más fácil de los compuestos bioactivos (Jyothi et al., 2010).

El valor de IB del extracto seco fue menor en la FO, el cual podría atribuirse al secado por flujo de aire, el tamaño y la forma cristalina del extracto de la cáscara liofilizada; por lo tanto, durante el secado con flujo de aire, la estructura de la muestra presenta menor porosidad, debido al proceso de secado lento sin efecto físico que formara poros. Además, la apariencia cristalina del extracto explica la menor solubilidad del material. La estructura física de los componentes de la red cristalina influye en las propiedades fisicoquímicas de las sustancias bioactivas; las estructuras cristalinas tienen poca capacidad de absorber agua, excepto su propia agua cristalina, esto se debe a que las partículas de forma cristalina retienen la humedad capa por capa. También, cuando mayor sea el tamaño de la partícula, menor será la velocidad de solubilidad (Recharla et al., 2017; Savaş & Manav, 2023).

Otra posible explicación del valor más bajo de IB del extracto seco podría deberse a que los pigmentos antociánicos de la cáscara liofilizada de *C. cainito* pueden actuar como inhibidores de la enzima α -amilasa. En un estudio realizado por Sui et al., (2016) encontraron que las antocianinas como la cianidina-3-glucósido, la cianidina-3,5-glucósido, la cianidina-3-rutinósido y la peonidina-3-glucósido inhibieron competitivamente a la enzima α -amilasa, siendo la cianidina-3-glucósido con mayor actividad inhibitoria, asimismo, con los resultados obtenidos en el acoplamiento molecular *in silico* demostraron que las cuatro antocianinas estaban rodeadas por las cadenas laterales del sitio activo de la α -amilasa, concluyendo que, la cadena lateral de GLU233 desempeñaba un papel clave en la inhibición de las antocianinas, siendo este un residuo común encontrado para todos los inhibidores.

Al comparar los materiales analizados en las fases FGI y FGF, se encontraron valores similares de IB para T1 (87.30 %), T2 (81.89 %) y polvo de cáscara liofilizado (93.62 %); sin embargo, estas muestras resultaron con 2 veces más de IB respecto al extracto seco de *C. cainito* (42.15 %). Algunos autores afirman que, en el entorno gástrico, el ambiente ácido (HCl con un valor de pH = 2) y la acción de la enzima digestiva de la pepsina (proteasa) facilitaron la liberación de las antocianinas que se encuentran dentro de la matriz alimentaria sólida, además, causaron una hidrólisis parcial de compuestos de alto peso molecular, como los oligómeros de proantocianina. La pepsina es una enzima presente en la fase gástrica, el cual, rompe los enlaces peptídicos de las proteínas, dando lugar a la formación de péptidos más pequeños y más fáciles de digerir (Han et al., 2019). Este hecho favoreció el aumento en la cantidad de compuestos monoméricos cuantificados en la fracción soluble, lo cual se reflejó en un aumento significativo de las concentraciones del % IB después de la digestión gástrica. De esta manera, el ambiente ácido en FG ocasionó la conversión de las antocianinas en cationes de flavilio rojo. Estos cationes absorben mayor cantidad de luz a 520 nm a diferencia con las antocianinas nativas, en consecuencia, se dio la sobreestimación de las especies de antocianinas (Kumkum et al., 2024; Podsędek et al., 2014).

Posteriormente, se observó una disminución significativa del valor de IB al someter las muestras en FII, respecto a las anteriores fases de la digestión. Dentro de la FII, la microcápsula T1 (43.39 %) experimentó una mayor tasa de bioaccesibilidad en comparación a los otros materiales con valores entre 19 y 21 %.

No obstante, en la última etapa de digestión FIF ninguna muestra mostró una tasa de liberación de AT. El valor bajo del IB de la FII y FIF podría atribuirse a la alta degradación de las antocianinas durante las condiciones de FII y FIF. Se sabe que las antocianinas tienen baja estabilidad a valores altos de pH, por lo tanto, el cambio repentino del pH ácido de la fase gástrica al pH neutro del intestino, así como el tiempo en el que estuvieron expuestas las muestras, podrían ser responsables de su hidrólisis y degradación específica (Fredes et al., 2018). Asimismo, se observó en el experimento que al centrifugar las muestras para la obtención de la fase soluble de los microencapsulados T1, T2, los extractos secos y la cáscara liofilizada de *C. cainito*, la fase insoluble era incolora, lo cual, se podría indicar que en los pellets no se

encontró alguna coloración relacionada con la concentración de antocianinas, por lo tanto, se liberaron todos los componentes en todas las fases de la digestión gastrointestinal.

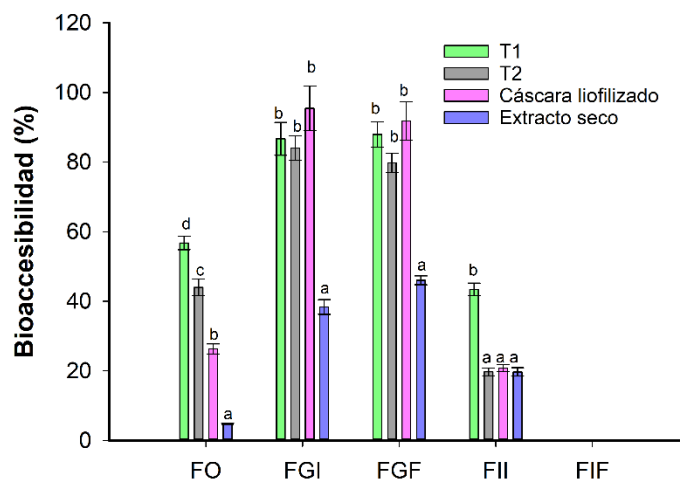


Figura 20. Bioaccesibilidad (%) de antocianinas totales de encapsulado T1 y T2, extracto y cáscara de *C. cainito* en las diferentes fases de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Donde; T1= 1 % PCH y 1 % de ALGP, T2= 1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras para cada fase.

6.2. Índice de bioaccesibilidad (IB) de compuestos fenólicos totales (CFT)

En la figura 20 se muestran los valores de IB de CFT solubles de microcápsulas, cáscara y extracto seco expuestos a una digestión gastrointestinal *in vitro* (oral, gástrica inicial-final e intestinal inicial-final). Se observa, que hubo una alta variación del IB de CFT para cada fase de la digestión simulada y por cada tipo de muestra analizada. En general, el % IB de cada muestra aumentó conforme las muestras pasaron cada etapa de la digestión, encontrando una mayor liberación de compuestos fenólicos en la FIF.

En la primera fase, la mayor tasa de bioaccesibilidad resultó para T2-1.5 % de biopolímeros (46.12 %), seguido de T1-1.0 % de biopolímeros (26.71 %), extracto seco (16.93 %) y cáscara liofilizada de *C. cainito* (1.12 %). Se sabe que hay ciertos factores que influyen en la liberación de CFT en la fase oral, tales como el pH de 6.8, la acción de la enzima α -amilasa y la agitación (que simulan la acción mecánica de la masticación en la boca). En esta etapa se hidrolizan los enlaces glucosídicos de los CFT glucosidados, liberando los carbohidratos complejos y convirtiéndolos en azúcares simples, permitiendo la solubilidad de una fracción de los CFT en la saliva simulada (Cereceres Aragón et al., 2018; Palafox-Carlos et al., 2011). Aunque también en esta fase se pueden disolver los compuestos fenólicos libres de las muestras evaluadas.

La alta variación del % IB entre las microcápsulas T1 y T2 en la FO podría deberse a la relación proteína-pH, ya que el T2 al tener mayor concentración de proteína de chícharo experimentó una mayor solubilidad con pH neutro. Estudios realizados por Tang et al., (2023) han demostrado que el pH altera de manera diferencial las propiedades estructurales y funcionales de las proteínas vegetales. A medida que el pH se aleja del punto isoeléctrico (pI), las proteínas incrementan su carga neta (negativa o positiva), lo que genera una mayor repulsión electrostática. Este hecho dificulta la agregación proteica y favorece su mayor solubilidad. Por lo tanto, al haber mayor concentración de proteína (1.5 %) en la microcápsula T2, contribuyó a que se volviera más soluble cuando el pH se ajustó a 7 en la FO, lo que explica una mayor liberación de CFT.

De las muestras analizadas, se encontró un menor valor del % IB para la cáscara de *C. cainito*, lo cual se puede atribuir a la probable presencia de compuestos fenólicos ligados, ya que estos compuestos pueden representar hasta el 70 % del contenido total de CFT en la cáscara de diferentes frutas. Los compuestos fenólicos ligados son compuestos bioactivos que se

encuentran unidos con enlaces covalentes a componentes estructurales de la pared celular, tales como la celulosa, hemicelulosa, pectina y proteína. Por lo tanto, debido a su fuerte enlace covalente con las macromoléculas, resulta difícil su liberación en la FO, lo que ocasiona que permanezcan en el residuo de la extracción (Shahidi & Hossain, 2023).

Los valores de IB de CFT de las muestras analizadas experimentaron un comportamiento similar dentro de la FGI y FGF. En ambas fases, se encontró una mayor bioaccesibilidad de CFT para extracto seco (FGI= 64.85 % y FGF= 81.53 %) y una menor bioaccesibilidad para la cáscara liofilizada (FGI= 9.63 % y FGF= 7.73 %). La liberación de los CFT en la fase gástrica podría deberse a las condiciones en el que se encuentra. El jugo gástrico está compuesto principalmente de agua, mucina, ácido clorhídrico y pepsina. Los CFT están unidos a otros compuestos de la matriz alimentaria, como son las proteínas y fibras. La pepsina es una peptidasa que hidroliza sólo enlaces peptídicos de las proteínas, a medida que las proteínas se degradan, se produce la liberación de los CFT que se encuentran unidas a ellas, produciendo un aumento en el % IB en el estómago (Paillalef-Barrientos, 2016). Se ha demostrado que los CFT tienen una mayor estabilidad en un ambiente ácido. Dependiendo de la forma compleja, también se puede liberar el aglicón. Por otro lado, si los CFT se encuentran unidos con el moco salival, las mucinas actúan como una capa protectora, lo que impide la absorción gástrica (Ciupei et al., 2024).

Al comparar las fases de la digestión, FII (entre 70 y 100 %) y FIF (entre 85 y 130 %) exhibieron valores más altos de bioaccesibilidad de CFT para T1, T2 y extracto seco. En la fase FII el encapsulado T2 (97 %) presentó el mayor valor de bioaccesibilidad, seguidos del extracto seco (78.10 %) y el T1 (70.18 %), con valores similares. No obstante, la cáscara liofilizada de *C. cainito* (11.78 %) experimentó la menor tasa de bioaccesibilidad. Asimismo, en la FIF, los valores de % IB resultaron superiores a las otras fases de la digestión, siendo el encapsulado T2 (134.76 %), la muestra que obtuvo el valor más alto de IB de todas las muestras evaluadas, seguidos de T1 y el extracto seco, con valores similares de 98.57 % y 84.94 %, respectivamente; por el contrario, la muestra digerida de la cáscara de *C. cainito* (16.29 %) presentó una menor tasa de bioaccesibilidad. El incremento del % IB de los CFT en la fase intestinal podría atribuirse a la exposición de las diferentes muestras de *C. cainito* con enzimas como la pancreatina (amilasa, proteasa, lipasa, tripsina, etc.) producidas por las células exocrinas de páncreas porcino, sal biliar y la solución ajustado a pH 7.0 (con una solución de NaHCO_3), lo que pudo

facilitar la liberación de los CFT de la matriz del alimento, debido a que las propiedades emulsionantes de las sales biliares y la pancreatina, descomponen con mayor facilidad los complejos no covalentes formados entre estas moléculas bioactivas y las enzimas digestivas, liberando azúcares reductores de la hidrólisis de polisacáridos y proteínas (que no pudo ser digerido con anterioridad) (Jaouhari et al., 2025; Menchaca-Armenta et al., 2023). Por lo tanto, este ambiente digestivo simulado favoreció que los CFT estuvieran más solubles y bioaccesibles.

El alto IB que se observa para el T2 en la FIF (mayor al 100 %) puede atribuirse a interferencias con los azúcares reductores y ciertos aminoácidos que reaccionan en el método Folin Ciocalteu empleado para la cuantificación de CFT. Según Jayaprakash et al., (2022) las proteínas se desnaturalizan en un ambiente alcalino, exponiendo grupos polares y no polares, los cuales pueden interactuar con las moléculas de agua y con otros compuestos, favoreciendo la solubilidad de las proteínas y aumentando su digestibilidad (Xue et al., 2024). Asimismo, Jaeckels et al., (2016) demostraron que el complejo proteínas de guisantes y alginato de propilenglicol mejoraron la solubilidad de los encapsulados.

El método de Folin Ciocalteu es un método de referencia empleado para la determinación y cuantificación de compuestos fenólicos, debido a su simplicidad y reproducibilidad. Sin embargo, el ensayo de Folin Ciocalteu tiene una baja especificidad para compuestos fenólicos, ya que el reactivo podría reducirse por la presencia de otros compuestos no fenólicos presentes en la muestra, tales como, azúcares reductores y ciertos aminoácidos, ocasionando una posible sobreestimación del contenido de CFT (Munteanu & Apetrei, 2021; Pérez et al., 2023). Estudios realizados por Everette et al., (2010) encontraron que la presencia de algunos aminoácidos, mostraron una reactividad significativa frente al reactivo Folin Ciocalteu.

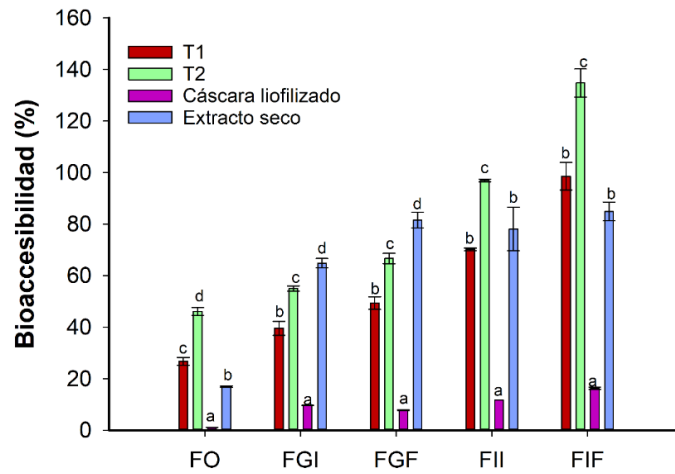


Figura 21. IB de CFT solubles de la cáscara de *C. cainito*, extracto seco y encapsulados T1 y T2, después de cada fase de la digestión simulada. Donde; T1 (1 % PCH y 1 % de ALGP, 1:1), T2 (1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, 1:1), FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras dentro de cada fase.

6.3. Liberación de la capacidad antioxidante DPPH•

La figura 21 muestra la comparación de la capacidad antioxidante DPPH de los encapsulados, el extracto seco y la cáscara evaluada en cada fase de digestión *in vitro* (oral, gástrica inicial-final e intestinal inicial-final).

En lo general, la capacidad antioxidante de las muestras tuvo una alta variación en FO, FGI y FGF, mientras que FII y FIF mostró poca variación. Además, se encontró que la capacidad antioxidante de las muestras fue mayor dentro de las fases FGI y FGF en comparación con las fases FO, FII y FIF.

En la FO, la capacidad antioxidante liberada fue baja para todos los tratamientos, en el caso del T2 fue de 12.62 % y para T1 7.72 %. No obstante, el extracto seco y la cáscara liofilizada de *C. cainito* presentaron una mayor capacidad antioxidante en esta fase, con valores similares de 16.16 % y 15.63 %, respectivamente. El ambiente y las condiciones de la FO tuvo poco efecto en la liberación de la capacidad antioxidante en las distintas muestras analizadas.

En las fases FGI y FGF, se observó un comportamiento similar de la tasa de liberación de la capacidad antioxidante entre las muestras. La mayor tasa de liberación se encontró en la cáscara liofilizada para ambas fases (FGI=163.03 % FGF= 172.26 %), mientras que los encapsulados T1 (FGI=37.13 % FGF= 41.62 %) alcanzaron las menores tasas de liberación. En estudios realizados por diversos autores como Flores et al., (2015) y Ahmad et al., (2018) obtuvieron comportamientos similares a los hallazgos del presente estudio, donde los porcentajes de inhibición de DPPH presentaron un aumento significativo después de la fase gástrica en la digestión *in vitro* de extractos de arándano (*Vaccinium ashei*) microencapsulados con aislado de proteína de suero mediante secado por aspersión y microcápsulas de antocianinas recubiertas con azafrán en β -glucano y β -ciclodextrina mediante secado por aspersión, respectivamente. Asimismo, Özkan et al., (2022) reportaron un aumento significativo en la capacidad antioxidante DPPH de diferentes infusiones herbales tras la digestión gástrica. Según You et al., (2010) el aumento de la capacidad antioxidante en la digestión simulada podría atribuirse al cambio drástico de los valores de pH en las fases FGI y FGF que permite la liberación de compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante.

Al comparar FII y FIF con FGI y FGF, en las primeras fases se encontró una menor tasa de liberación de la capacidad antioxidante para todas las muestras. Para FII, la cáscara liofilizada

(97.49 %) tuvo el mayor valor de capacidad antioxidante, mientras que la microcápsula T2 (21.10 %), extracto seco (14.60 %) y la microcápsula T1 (12.42 %) se encontraron valores similares. En la FIF, se observó que la microcápsula T1 y el extracto seco tuvieron la menor capacidad antioxidante, con valores similares de 13.72 % y 19.19 %, respectivamente. La microcápsula T2 (30.52 %) demostró un aumento significativo de la capacidad antioxidante en FIF comparación con lo reportado para FII. No obstante, la cáscara liofilizada de *C. cainito* (138.8 %) obtuvo la mayor capacidad antioxidante en FIF. La disminución de la capacidad antioxidante experimentado para FIF y FII respecto a las otras fases, puede atribuirse a varios factores, como los cambios moleculares de algunos compuestos fenólicos, los métodos de prueba de actividad antioxidante empleados o con la interacción entre los compuestos fenólicos con los otros constituyentes en las muestras de digestión (Bouayed et al., 2011; Valero-Cases et al., 2017). Cuvas-Limon et al., (2022) encontraron comportamientos similares después de la digestión *in vitro*; la capacidad antioxidante (medida mediante DPPH) en jugos de *Aloe vera* aumentó en la FO y FG, mientras que disminuyó en la fase intestinal. Según Wootton-Beard et al., (2011) mencionan que, la disminución de la capacidad antioxidante en la fase intestinal podría atribuirse a la influencia de los cambios en el pH durante la digestión. El pH tiene efectos en la racemización de las moléculas, dando como resultado, dos enantiómeros quirales con distinta biodisponibilidad y bioactividad. Este hecho confirma que, en lo general, el cambio de pH ácido (pH 2.0) a un pH neutro o alcalino (pH 7.0) en las muestras de *C. cainito* puede provocar una disminución en la liberación de la capacidad antioxidante.

Los valores de la tasa de liberación que se observa en la cáscara liofilizada de *C. cainito* (mayor del 100 %) se podría atribuir a interferencias de los compuestos no fenólicos, como las fibras y los polisacáridos. Según Quirós-Sauceda et al., (2011); Sáyago-Ayerdi & Goñi, (2010) mencionan que, los compuestos fenólicos están asociados a otros compuestos de la matriz alimentarias como lo son: la fibra y las proteínas, los cuales son componentes de los residuos de la extracción. Por lo tanto, podrían reaccionar los compuestos no fenólicos podrían reaccionar con el radical DPPH y crear sobreestimaciones en los resultados. También, estudios previos indican que la presencia de algunos polisacáridos contiene capacidad antioxidante, lo que sugiere que poseen una fuerte capacidad donadora de hidrógenos (Tomida et al., 2010). Paillalef-Barrientos, (2016) evaluó la capacidad antioxidante de la digestión *in vitro* en murta fresca y liofilizada, obteniendo una tasa de liberación mayor del 100 % al final de la digestión

gastrointestinal *in vitro*. Este mismo autor atribuyó el aumento de la capacidad antioxidante de la murta fresca y liofilizada al final de la digestión *in vitro* a la chalcona y fenol que se pueden generar a partir de la degradación de antocianinas (Liang et al., 2012).

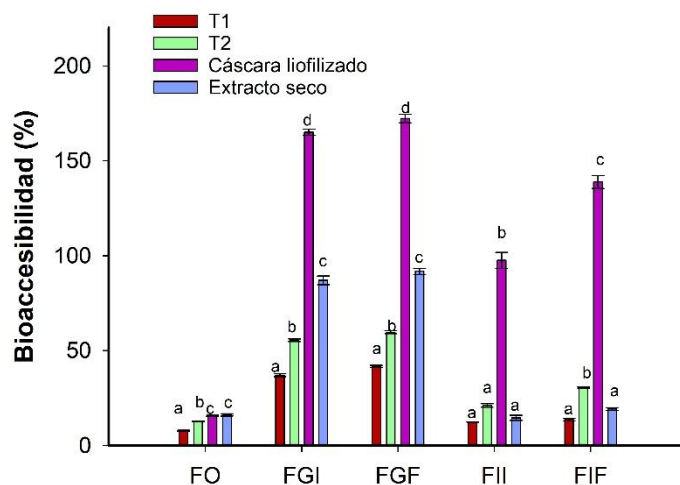


Figura 22. Liberación de la capacidad antioxidante DPPH• de los compuestos fenólicos solubles de la cáscara de *C. cainito*, extracto seco y encapsulados T1 y T2 después de cada fase de la digestión gastrointestinal simulada. Donde: T1= 1 % PCH y 1 % de ALGP, T2= 1.5 % PCH y 1.5 % de ALGP, FO= Fase Oral, FGI= Fase Gástrica Inicial, FGF= Fase Gástrica Final, FII= Fase Intestinal Inicial y FIF= Fase Intestinal Final. Los valores corresponden al promedio de dos repeticiones $\pm$ desviación estándar. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre las muestras dentro de cada fase.

CONCLUSIÓN

Los encapsulados (T1 y T2), el extracto seco y la cáscara liofilizado tuvieron diferencias en su bioaccesibilidad *in vitro* con respecto a las antocianinas totales, los compuestos fenólicos solubles y la capacidad antioxidante DPPH.

Las microcápsulas T1 y T2 experimentaron altas tasas de bioaccesibilidad de antocianinas durante las fases FGI y FGF; sin embargo, al final de la digestión no se detectó liberación de antocianinas. Este hallazgo sugiere la necesidad de realizar estudios adicionales para optimizar su estabilidad, protección y liberación de las antocianinas en todo el sistema digestivo. No obstante, los encapsulados tuvieron la capacidad de proteger los compuestos fenólicos solubles y mantener la capacidad antioxidante al final de la digestión, lo que se explica por su alta bioaccesibilidad. Por lo tanto, el aumento en la concentración de los materiales encapsulantes ofrece una protección más eficaz a las microcápsulas, favoreciendo una mayor bioaccesibilidad de los CFT y la capacidad antioxidante de la cáscara de caimito al final de la digestión *in vitro*. Estos hallazgos indican que los materiales encapsulantes (proteína de chícharo y alginato de propilenglicol) utilizados en el proceso de coacervación compleja son eficaces para proteger tanto los CFT como la capacidad antioxidante de las microcápsulas de *C. cainito* durante el tránsito a través de las condiciones gastrointestinales *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca-Vargas, R., & Petricevich, V. L. (2018). Importancia biológica de los compuestos fenólicos. *Inventio*, 14(34), 33-38. <https://doi.org/10.30973/inventio/2018.14.34/4>
- Aguilar-Vázquez, G., Loarca-Piña, G., Figueroa-Cárdenas, J. D., & Mendoza, S. (2018). Electrospun fibers from blends of pea (*Pisum sativum*) protein and pullulan. *Food Hydrocolloids*, 83, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.051>
- Aguilera, Y., Mojica, L., Rebollo-Hernanz, M., Berhow, M., De Mejía, E. G., & Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Black bean coats: New source of anthocyanins stabilized by β -cyclodextrin copigmentation in a sport beverage. *Food Chemistry*, 212, 561-570. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.022>
- Aguilera-Otíz, M., Reza-Vargas, M. D. C., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia*, 13(2), 16. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using β glucan and β cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 435-442. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122>
- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875-877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Akinfemiwa, O., Zubair, M., & Muniraj, T. (2025). Amylase. En *statpearls*. Statpearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557738/>

- Alminger, M., Aura, A. -M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M. C., mcdougall, G. J., Requena, T., & Santos, C. N. (2014). *In Vitro* Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413-436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>
- Álvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G., De la Rosa, L., & Ayala-Zavala, J. (2012). *Antioxidantes en alimento y salud* (1era ed.). CIAD, AM Editores, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Álvarez-Vargas, J. E., Alia-Tejacal, I., López-Martínez, V., Acosta-Durán, M. C., Andrade-Rodríguez, M., Colinas-León, M. T., & Villegas-Torres, O. (2006). Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.), en el estado de Morelos. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 217-221.
- Andrés-Andrés, A. (2019). *Desarrollo de un sistema de digestión in vitro para la determinación de la bioaccesibilidad de componentes bioactivos*. [Tesis de grado]. Universidad Politécnica de Valencia.
- Arfaoui, L. (2021). Dietary Plant Polyphenols: Effects of Food Processing on Their Content and Bioavailability. *Molecules*, 26(10), 2959. <https://doi.org/10.3390/molecules26102959>
- Ayala-Mata, F., Barrera-Mendoza, C. C., Cortés-Rojo, C., montoyapérez, R., García-Pérez, M. E., & Rodríguez-Orozco, A. (2019). Antioxidantes en asma: Polifenoles. *Med Int Méx*, 35(2), 223-234. <https://doi.org/10.24245/mim. V35i2.2291>
- Ayvaz, H., Cabaroglu, T., Akyildiz, A., Pala, C. U., Temizkan, R., Ağçam, E., Ayvaz, Z., Durazzo, A., Lucarini, M., Direito, R., & Diaconeasa, Z. (2022). Anthocyanins: Metabolic Digestion, Bioavailability, Therapeutic Effects, Current

- Pharmaceutical/Industrial Use, and Innovation Potential. *Antioxidants*, 12(1), 48.
<https://doi.org/10.3390/antiox12010048>
- Babu, A., Shams, R., Dash, K. K., Shaikh, A. M., & Kovács, B. (2024). Protein-polysaccharide complexes and conjugates: Structural modifications and interactions under diverse treatments. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101510.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101510>
- 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. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143-182.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>
- Bakry, A. M., Fang, Z., Ni, Y., Cheng, H., Chen, Y. Q., & Liang, L. (2016). Stability of tuna oil and tuna oil/peppermint oil blend microencapsulated using whey protein isolate in combination with carboxymethyl cellulose or pullulan. *Food Hydrocolloids*, 60, 559-571. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.026>
- Batalla Mayoral, J., Vega Hernández, M., & Silveti-Loeza, A. (2019). Análisis de la actividad antioxidante en la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Mediante las técnicas FRAP y DPPH. *RD-ICUAP*. <https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2019.14.386>
- Baublis, A., Spomer, A., & Berber-Jiménez, M. D. (1994). Anthocyanin Pigments: Comparison of Extract Stability. *Journal of Food Science*, 59(6), 1219-1221.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb14681.x>
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP*

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>

- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>
- 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/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brito De Souza, V., Thomazini, M., Chaves, I. E., Ferro-Furtado, R., & Favaro-Trindade, C. S. (2020). Microencapsulation by complex coacervation as a tool to protect bioactive compounds and to reduce astringency and strong flavor of vegetable extracts. *Food Hydrocolloids*, 98, 105244. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105244>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Burdulis, D., Sarkinas, A., Jasutienė, I., Stakėviciene, E., Nikolajevs, L., & Janulis, V. (2009). Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) And blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Fruits. *Acta Pol Pharm*, 66(4), 399-408.
- Burgos-Edwards, A., Jiménez-Aspée, F., Thomas-Valdés, S., Schmeda-Hirschmann, G., & Theodulou, C. (2017). Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition

- and bioactivity of *Ribes magellanicum* and *R. Punctatum* after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 237, 1073-1082.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.060>
- Calzada, J. (1980). *Frutales nativos*. Universidad Nacional Agraria «La Molina».
- Campbell, C. (1974). “Research in CAIMITO *Chrysophyllum cainito*)” in Florida. *Proc. Tropical Region Amer. Soc. Hort.*, 18, 123-127.
- Can-Cauich, C. A., Sauri-Duch, E., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L., González-Aguilar, G. A., Cuevas-Glory, L. F., Pérez-Pacheco, E., & Moo-Huchin, V. M. (2017). Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 37, 501-506.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.028>
- Carpentier, J., Conforto, E., Chaigneau, C., Vendeville, J.-E., & Maugard, T. (2021). Complex coacervation of pea protein isolate and tragacanth gum: Comparative study with commercial polysaccharides. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 69, 102641. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102641>
- Carrillo-Sánchez, L. M., Jimenez-Bañuelos, C., Martínez-Castillo, J., Canché-Pacheco, W., & Orellana, R. (2021). Frutales nativos de la península de Yucatán: Hacia una colección más exhaustiva del Jardín Botánico Regional “Roger. *Desde El Herbario CICY*, 13, 168-173. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/2021
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, Ma. D. L., Páez-Hernández, Ma. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Cavalcante-Braga, A. R. C., Murador, D. C., De Souza Mesquita, L. M., & Vera de Rosso, V. (2018). Bioavailability of anthocyanins: Gaps in knowledge, challenges and future

- research. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 31-40.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.031>
- Cendrowski, A., Ścibisz, I., Mitek, M., Kieliszek, M., & Kolniak-Ostek, J. (2017). Profile of the Phenolic Compounds of *Rosa rugosa* Petals. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-10.
<https://doi.org/10.1155/2017/7941347>
- Cereceres Aragón, A., Rodríguez Tadeo, A., Álvarez Parrilla, E., & Rodrigo García, J. (2018). Ingestión de compuestos fenólicos en población adulta mayor. *Nutrición Hospitalaria*.
<https://doi.org/10.20960/nh.2171>
- Cevallos-Casals, B. 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/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>
- Chávez-Miranda, A. M. (2014). *Evaluación de la estabilidad de las antocianinas aciladas obtenidas del camote morado, en rábano y la campanilla roja* [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chel-Guerrero, L. D. (2018). *Evaluación del Potencial Farmacológico de los Extractos Metanólicos de Cáscaras de Frutas Tropicales: Annona squamosa L. (saramuyo), Annona reticulata L. (anona), Chrysophyllum cainito L. (caimito) y Melicoccus bijugatus Jacq. (Huaya)*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10180.48004>
- Ciupei, D., Colișar, A., Leopold, L., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. M. (2024). Polyphenols: From Classification to Therapeutic Potential and Bioavailability. *Foods*, 13(24), 4131.
<https://doi.org/10.3390/foods13244131>

- Cömert, E. D., & Gökmen, V. (2018). Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Research International*, 105, 76-93. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
- Contreras-Martinez, M. (2019). *Evaluación de las propiedades encapsulantes de ácidos grasos poli-insaturados microencapsulados en diferentes matrices proteínicas* [Tesis]. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. (2020). Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Antioxidants*, 9(12), 1263. <https://doi.org/10.3390/antiox9121263>
- Cuvas-Limon, R. B., Ferreira-Santos, P., Cruz, M., Teixeira, J. A., Belmares, R., & Nobre, C. (2022). Effect of Gastrointestinal Digestion on the Bioaccessibility of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Fermented Aloe vera Juices. *Antioxidants*, 11(12), 2479. <https://doi.org/10.3390/antiox11122479>
- Da Silva Soares, B., Constantino, A. B. T., & Garcia-Rojas, E. E. (2024). Microencapsulation of curcumin by complex coacervation of lactoferrin and carboxymethyl tara gum for incorporation into edible films. *Food Hydrocolloids for Health*, 5, 100178. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2024.100178>
- De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic Compounds. En *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253-271). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
- De Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 281-299. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9074-0>

- Déciga-Campos, M., Ortiz-Andrade, R., Sanchez-Recillas, A., Flores-Guido, J. S., & Ramírez Camacho, M. A. (2017). Antinociceptive and Antihyperalgesic Activity of a Traditional Maya Herbal Preparation Composed of *Pouteria Campechiana*, *Chrysophyllum Cainito*, *Citrus Limonum* , and *Annona Muricata*. *Drug Development Research*, 78(2), 91-97.
<https://doi.org/10.1002/ddr.21378>
- Delascio, F. (1985). Algunas plantas usadas en la medicina empírica venezolana. *Direcciones de Investigaciones Biológicas, División de vegetación, Jardín Botánico-Inparques: Caracas*.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
<https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
- Devi, L. M., Das, A. B., & Badwaik, L. S. (2023). Effect of gelatin and acacia gum on anthocyanin coacervated microcapsules using double emulsion and its characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123896.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123896>
- Doan, H. V., Riyajan, S., Iyara, R., & Chudapongse, N. (2018). Antidiabetic activity, glucose uptake stimulation and α -glucosidase inhibitory effect of *Chrysophyllum cainito* L. Stem bark extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 267.
<https://doi.org/10.1186/s12906-018-2328-0>
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E., & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6419>

- Eghbal, N., & Choudhary, R. (2018). Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. *LWT*, 90, 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.036>
- Eisinaite, V., Juraite, D., Schroën, K., & Leskauskaite, D. (2017). Food-grade double emulsions as effective fat replacers in meat systems. *Journal of Food Engineering*, 213, 54-59. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.022>
- El-Hawary, S. S. E.-D., El Zalabani, S. M., Selim, N. M., Ibrahim, M. A., Wahba, F. A., El Badawy, S. A., Mahdy, N. E. S., Yasri, A., & Sobeh, M. (2019). Phenolic Constituents of *Chrysophyllum oliviforme* L. Leaf Down-Regulate TGF- β Expression and Ameliorate ccl4-Induced Liver Fibrosis: Evidence from In Vivo and In Silico Studies. *Antioxidants*, 8(12), 646. <https://doi.org/10.3390/antiox8120646>
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Eslami, P., Davarpanah, L., & Vahabzadeh, F. (2017). Encapsulating role of β -cyclodextrin in formation of pickering water-in-oil-in-water ($W_1/O/W_2$) double emulsions containing *Lactobacillus delbrueckii*. *Food Hydrocolloids*, 64, 133-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.035>
- Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Sosa, F., & Vernon-Carter, E. J. (2007). Gum Arabic–Chitosan Complex Coacervation. *Biomacromolecules*, 8(4), 1313-1318. <https://doi.org/10.1021/bm0611634>
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the

- Folin–Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139-8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>
- F. Gibbs, Selim Kermasha, Inteaz Al, B. (1999). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), 213-224. <https://doi.org/10.1080/096374899101256>
- Fennema, O. R. (with Tannenbaum, S. R., Nawar, W. W., Lindsay, R. C., Miller, D. D., Swaisgood, H. E., & Taoukis, P.). (2000). *Química de los alimentos* (2a. Ed). Acribia.
- Flores, F. P., Singh, R. K., Kerr, W. L., Phillips, D. R., & Kong, F. (2015). In vitro release properties of encapsulated blueberry (*Vaccinium ashei*) extracts. *Food Chemistry*, 168, 225-232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.059>
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73(2), 627-650. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84277-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6)
- Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N., & Walsh, P. J. (2019). A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, 30(6), 587-599. <https://doi.org/10.1002/pca.2851>
- 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), 1227. <https://doi.org/10.3390/molecules23051227>
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biologica Colombiana*, 13(3), 27-36.

- Ge, Q., & Ma, X. (2013). Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (An ning). *Food Science and Human Wellness*, 2(2), 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2013.04.001>
- Gharanjig, H., Gharanjig, K., Hosseinneshad, M., & Jafari, S. M. (2020). Development and optimization of complex coacervates based on zedo gum, cress seed gum and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.115>
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., & Scaccini, C. (1998). Antioxidant Activity of Different Phenolic Fractions Separated from an Italian Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 361-367. <https://doi.org/10.1021/jf970486b>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gorusupudi, A., & Bernstein, P. S. (2016). Macular Carotenoids: Human Health Aspects. En A. Kaczor & M. Baranska (Eds.), *Carotenoids* (1.^a ed., pp. 59-74). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118622223.ch5>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Guo, Q., Su, J., Yuan, F., Mao, L., & Gao, Y. (2019). Preparation, characterization and stability of pea protein isolate and propylene glycol alginate soluble complexes. *LWT*, 101, 476-482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.057>
- Han, F., Yang, P., Wang, H., Fernandes, I., Mateus, N., & Liu, Y. (2019). Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 211-224. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.025>

- Hellström, J., Mattila, P., & Karjalainen, R. (2013). Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.010>
- Henao, L., & Morantes, J. (2012). *Estudio de la técnica de emulsionar con membranas y pre-mezclado en flujo cruzado, para obtener emulsiones simples y dobles* [Tesis doctoral]. Universidad Central de Venezuela.
- Hernández-Sánchez, M. De la L., Hernández-Fuentes, A. D., Elorza-Martínez, P., López-Herrera, M., & López-Juménez, M. A. (2009). Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) En el estado de Veracruz, México. *Revista 70 UDO Agrícola*, 9(1), 70-73.
- Islam, S. (2016). Anthocyanin Compositions in Different Colored Gladiolus Species: A Source of Natural Food Colorants. *American Journal of Food Science and Technology*, 4(4), 109-114. <https://doi.org/10.12691/ajfst-4-4-4>
- Jaeckels, N., Meier, M., Dietrich, H., Will, F., Decker, H., & Fronk, P. (2016). Influence of polysaccharides on wine protein aggregation. *Food Chemistry*, 200, 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.088>
- Jaouhari, Y., Bordiga, M., Travaglia, F., Coisson, J.-D., Costa-Barbosa, A., Sampaio, P., Botelho, C., Gullón, B., & Ferreira-Santos, P. (2025). Microwave-assisted extraction of raspberry pomace phenolic compounds, and their bioaccessibility and bioactivity. *Food Chemistry*, 478, 143641. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143641>
- Jayaprakash, G., Bains, A., Chawla, P., Fogarasi, M., & Fogarasi, S. (2022). A Narrative Review on Rice Proteins: Current Scenario and Food Industrial Application. *Polymers*, 14(15), 3003. <https://doi.org/10.3390/polym14153003>

- Jiménez-Colmenero, F. (2013a). Emulsiones múltiples; Compuestos bioactivos y alimentos funcionales. *Nutricion Hospitalaria*, 28(5), 1413-1421. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.5.6673>
- Jiménez-Colmenero, F. (2013b). Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Research International*, 52(1), 64-74. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.040>
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187-197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Kamonpatana, K., Failla, M. L., Kumar, P. S., & Giusti, M. M. (2014). Anthocyanin Structure Determines Susceptibility to Microbial Degradation and Bioavailability to the Buccal Mucosa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 6903-6910. <https://doi.org/10.1021/jf405180k>
- Kang, M.-K., Lim, S. S., Lee, J.-Y., Yeo, K. M., & Kang, Y.-H. (2013). Anthocyanin-Rich Purple Corn Extract Inhibit Diabetes-Associated Glomerular Angiogenesis. *Plos ONE*, 8(11), e79823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079823>
- Kanha, N., Regenstein, J. M., Surawang, S., Pitchakarn, P., & Laokuldilok, T. (2021). Properties and kinetics of the in vitro release of anthocyanin-rich microcapsules produced through spray and freeze-drying complex coacervated double emulsions. *Food Chemistry*, 340, 127950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127950>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>

- 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(1), 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2)
- Kopjar, M., & Piližota, V. (2009). Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 1(2), 16-20.
- Ku-Canul, C. (2021). *Extracción, caracterización y estabilidad de las antocianinas de cáscara de Chrysophyllum cainito L., cultivado en Yucatán* [Instituto Tecnológico de Mérida]. <https://rinacional.tecnm.mx/jspui/handle/tecnm/3632>
- Kumkum, R., Aston-Mourney, K., mcneill, B. A., Hernández, D., & Rivera, L. R. (2024). Bioavailability of Anthocyanins: Whole Foods versus Extracts. *Nutrients*, 16(10), 1403. <https://doi.org/10.3390/nu16101403>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- León, M., Surumay, Y., Marquina-Chidsey, G., & Arias, D. (2015). Desarrollo de un producto cosmético utilizando un pigmento natural extraído de la fruta Syzygium cumini (L) Skeels. (Pesjua). *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 30(1), 131-136.

- León-Hurtado, J. (1987). *Botánica de los cultivos tropicales* (2.^a ed.). IICA.
- Lewis, C. (1995). Effect of polysaccharides on the colour of anthocyanins. *Food Chemistry*, 54(3), 315-319. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00026-F](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00026-F)
- Li, D., Wang, P., Luo, Y., Zhao, M., & Chen, F. (2017). Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1729-1741. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1030064>
- Liang, L., Wu, X., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zou, Y., Mao, G., & 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/10.1016/j.foodres.2011.11.024>
- López De Lacey, A. M., Giménez, B., Pérez-Santín, E., Faulks, R., Mandalari, G., López-Caballero, M. E., & Montero, P. (2012). Bioaccessibility of green tea polyphenols incorporated into an edible agar film during simulated human digestion. *Food Research International*, 48(2), 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.04.024>
- Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Borges, G., Pereira-Caro, G., Bresciani, L., Del Rio, D., Lean, M. E. J., & Crozier, A. (2015). New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 758-769. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.400>
- Martínez-Gómez, J. G. (2021). *Bioaccesibilidad de microencapsulados de extractos de Haematococcus pluvialis ricos en astaxantina* [Tesis de grado]. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Martins, G. R., Monteiro, A. F., Do Amaral, F. R. L., & Da Silva, A. S. (2021). A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açai

- (*Euterpe oleracea* Mart.) Seeds extract. *Journal of Food Science and Technology*, 58(12), 4693-4702. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04959-5>
- Mehmood, A., Zhao, L., Wang, C., Nadeem, M., Raza, A., Ali, N., & Shah, A. A. (2019). Management of hyperuricemia through dietary polyphenols as a natural medicament: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(9), 1433-1455. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1412939>
- Meira, N. A., Klein Jr, L. C., Rocha, L. W., Quintal, Z. M., Monache, F. D., Cechinel Filho, V., & Quintão, N. L. M. (2014). Anti-inflammatory and anti-hypersensitive effects of the crude extract, fractions and triterpenes obtained from *Chrysophyllum cainito* leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(2), 975-983. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.12.014>
- Meira, N. A., Rocha, L. W., Da Silva, G. F., Quintal, Z. M., Delle Monache, F., Cechinel Filho, V., & Quintão, N. L. M. (2016). *Chrysophyllum cainito* leaves are effective against pre-clinical chronic pain models: Analysis of crude extract, fraction and isolated compounds in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 30-41. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.046>
- Menchaca-Armenta, M., José Frutos, M., Ramírez-Wong, B., Valero-Cases, E., Muelas-Domingo, R., Quintero-Ramos, A., Isabel Torres-Chávez, P., Carbonell-Barrachina, Á. A., Irene Ledesma-Osuna, A., & Nydia Campas-Baypoli, O. (2023). Changes in phytochemical content, bioaccessibility and antioxidant capacity of corn tortillas during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 405, 134223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134223>

- Mercadante, A. Z., & Bobbio, O. F. (2008). Anthocyanins in Foods: Occurrence and Physicochemical Properties. *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*, 241-276.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., ... Brodtkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct.*, 5(6), 1113-1124.
<https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., Vargas, M. D. L. V. Y., Betancur-Ancona, D., & Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508-515.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.013>
- Morton, J. F. (1987). “Star Apple *Chrysophyllum cainito* L”. Fruits of warm climates. *Miami: Technology y Engineering*, 408-410.
- Mosele, J. I., Macià, A., Romero, M.-P., & Motilva, M.-J. (2016). Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation. *Food Chemistry*, 201, 120-130.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.076>
- Muhoza, B., Qi, B., Harindintwali, J. D., Farag Koko, M. Y., Zhang, S., & Li, Y. (2022). Combined plant protein modification and complex coacervation as a sustainable strategy to produce coacervates encapsulating bioactives. *Food Hydrocolloids*, 124, 107239.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107239>

- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nava-Reyna, E., Michelena-Álvarez, Iliná, A., & Martínez Hernández, J. L. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 64-70.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>
- Nezamdoost-Sani, N., Amiri, S., & Mousavi Khaneghah, A. (2024). The application of the coacervation technique for microencapsulation bioactive ingredients: A critical review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101431. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101431>
- Nilsen-Nygaard, J., Hattrem, M. N., & Draget, K. I. (2016). Propylene glycol alginate (PGA) gelled foams: A systematic study of surface activity and gelling properties as a function of degree of esterification. *Food Hydrocolloids*, 57, 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.011>
- Obando-Mora, A. (2022). *Obtención de microcápsulas de antocianinas extraídas del Corozo (Bactris guineensis) con una matriz polimérica de almidón químicamente modificado* [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Colombia.
- Ocampo, R., Rios, L. A., Betancur, L. A., & Ocampo, D. M. (2008). Curso práctico de química orgánica. Enfocado a biología y alimentos. *Universidad de Caldas*.
- Özkan, G., Aras, A., & Çapanoğlu Güven, E. (2022). Investigating the Antioxidant Properties of Some Herbal Infusions During In Vitro Digestion. *Journal of Apitherapy and Nature*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.35206/jan.1106268>

- Paillalef-Barrientos, E. A. (2016). *Bioaccesibilidad de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante en murta (Ugni molinae Turcz) fresca y liofilizada* [Tesis]. Universidad Ustral de Chile.
- Pal, K., Paulson, A. T., & Rousseau, D. (2009). Biopolymers in Controlled-Release Delivery Systems. En *Modern Biopolymer Science* (pp. 519-557). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374195-0.00016-1>
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>
- Parismoreno, L., Gordillo, G., & Santos, E. (2016). Determinación de tiazurón (tdz) para la fase de multiplicación in vitro de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.). *YACHANA Revista Científica*, 5(2), 25-31.
- Paulino, C. A. (2017). *Pulpas de frutos patagónicos: Procesos, conservación y desarrollo de alimentos funcionales* [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de la Plata.
- Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81.
- Perales-Vázquez, G. D. C., Mercado-Mercado, G., De La Rosa, L. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2020). Bioaccesibilidad y cinética de liberación in vitro de compuestos fenólicos en algunas salsas de la cocina mexicana. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.205>
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543-17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>

- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 118-129. <https://doi.org/10.1017/S0954422413000097>
- Petersen, J. J., Parker, I. M., & Potter, D. (2012). Origins and close relatives of a semi-domesticated neotropical fruit tree: *Chrysophyllum cainito* (Sapotaceae). *American Journal of Botany*, 99(3), 585-604. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100326>
- Pillai, P. K. S., Morales-Contreras, B. E., Wicker, L., & Nickerson, M. T. (2020). Effect of enzyme de-esterified pectin on the electrostatic complexation with pea protein isolate under different mixing conditions. *Food Chemistry*, 305, 125433. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125433>
- Podsędek, A., Redzyna, M., Klewicka, E., & Koziołkiewicz, M. (2014). Matrix Effects on the Stability and Antioxidant Activity of Red Cabbage Anthocyanins under Simulated Gastrointestinal Digestion. *Biomed Research International*, 2014, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2014/365738>
- Pojer, E., Mattivi, F., Johnson, D., & Stockley, C. S. (2013). The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 483-508. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12024>
- Quiñones, M. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 1, 76-89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
- Quirós-Sauceda, A. E., Palafox, H., Robles-Sánchez, R. M., & González-Aguilar, G. A. (2011). Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: Capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotecnia*, 13(3), 3-11.

- Raiola, A., Meca, G., Mañes, J., & Ritieni, A. (2012). Bioaccessibility of Deoxynivalenol and its natural co-occurrence with Ochratoxin A and Aflatoxin B1 in Italian commercial pasta. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 280-287. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.031>
- Rakotonirina, F. M. V., Donno, D., Razafindrakoto, Z. R., Tombozara, N., Rafanomezantsoa, R. M., Andrianjara, C., Ramanitrahasimbola, D., & Beccaro, G. L. (2023). Qualitative and Quantitative Fingerprinting of the Fruit Extract of *Uapaca bojeri* Bail. (Euphorbiaceae) and Its Antioxidant, Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antihyperglycemic Effects: An Example of Biodiversity Conservation and Sustainable Use of Natural Resources in Madagascar. *Plants*, 12(3), 475. <https://doi.org/10.3390/plants12030475>
- Recharla, N., Riaz, M., Ko, S., & Park, S. (2017). Novel technologies to enhance solubility of food-derived bioactive compounds: A review. *Journal of Functional Foods*, 39, 63-73. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.001>
- Rein, M. (2005). *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins*. [Academic dissertation]. University of Helsinki.
- Rivas-Montoya, E. (2014). *Desarrollo de un prototipo simulador del tracto gastrointestinal mediante reactores químicos automatizados* [Tesis doctoral]. Universidad de Málaga.
- Roig, J. (1945). *Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba*. Ministerio de Agricultura de Cuba.
- Rojas-Rodríguez, F., & Torres-Córdoba, G. (2012). Árboles del Valle Central de Costa Rica: Reproducción Caimito (*Chrysophyllum cainito* L.). *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 9(23), 45-46. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v9i23.491>
- Romero-Castañeda, R., & Instituto Colombiano de Cultura Hispánica. (1985). *Frutas silvestres del Chocó* (2da ed.). Expedición botánica.

- Roy, S., & Rhim, J.-W. (2021). Anthocyanin food colorant and its application in ph-responsive color change indicator films. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(14), 2297-2325. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1776211>
- Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., Tekinay, T., Polat, B., Tastemur, B., Bayram, O., & Senturk, B. (2013). Cytotoxic and bioactive properties of different color tulip flowers and degradation kinetic of tulip flower anthocyanins. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 432-439. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.021>
- Sandoval-Peraza, V. M., Cu-Cañetas, T., Peraza-Mercado, G., & Acereto-Escoffié, P. O. M. (2017). Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. En *Propiedades funcionales de hoy* (1.^a ed., pp. 181-218). OmniaScience. <https://doi.org/10.3926/oms.358>
- Santos-Cervera, M. (2023). *Optimización de la extracción asistida por ultrasonidos de antocianinas de la cáscara de Chrysophyllum cainito L. Y evaluación de sus propiedades bioactivas* [Tesis Maestría]. Instituto Tecnológico de Mérida.
- Sari, P., Wijaya, C. H., Sajuthi, D., & Supratman, U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, 132(4), 1908-1914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.025>
- Savaş, E., & Manav, M. (2023). Process optimization and characterization of physicochemical properties of freeze-dried pineapple snacks enriched with propolis. *International Journal of Food Properties*, 26(2), 2693-2715. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2244689>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). Hibiscus sabdariffa L : Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(1), 79-84.

- Shaddel, R., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Hamishehkar, H., Fathi-Achachlouei, B., & Huang, Q. (2018). Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1800-1810. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.044>
- Shahidi, F., & Hossain, A. (2023). Importance of Insoluble-Bound Phenolics to the Antioxidant Potential Is Dictated by Source Material. *Antioxidants*, 12(1), 203. <https://doi.org/10.3390/antiox12010203>
- Sharma, N., Madan, P., & Lin, S. (2016). Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: A co-surfactant study. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 404-416. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2015.09.004>
- Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., Bastos, J. D. O., & Silva, C. D. B. D. (2014). Microencapsulation: Concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44(7), 1304-1311. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130971>
- Silva-Jerez, F. A., & Oyarzún-Cayo, P. A. (2021). Una visión actualizada sobre la síntesis, escalado y aplicaciones de las nanoemulsiones dobles. *Entre ciencia e ingeniería*, 15(30), 30-40. <https://doi.org/10.31908/19098367.2095>
- Sing, C. E. (2017). Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 2-16. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.004>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

- Siti Azima, A. M., Noriham, A., & Manshoor, N. (2017). Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *Elliptica* , *Clitoria ternatea* , *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*, *38*, 232-241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.018>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(10), 24673-24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Sui, X., Zhang, Y., & Zhou, W. (2016). In vitro and in silico studies of the inhibition activity of anthocyanins against porcine pancreatic α -amylase. *Journal of Functional Foods*, *21*, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.042>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, *120*(2), 599-606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Tang, Q., Roos, Y. H., & Miao, S. (2023). Plant Protein versus Dairy Proteins: A pH-Dependency Investigation on Their Structure and Functional Properties. *Foods*, *12*(2), 368. <https://doi.org/10.3390/foods12020368>
- Tánori-Encinas, D., Wall-Medrano, A., Cárdenas-López, J. L., Ledesma-Osuna, A. I., & Robles-Sánchez, M. (2022). Cápsulas de polvo de arándano como propuesta nutracéutica para mejorar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *72*(1), 11-22. <https://doi.org/10.37527/2022.72.1.002>
- Tena, N., Martín, J., & Asuero, A. G. (2020). State of the Art of Anthocyanins: Antioxidant Activity, Sources, Bioavailability, and Therapeutic Effect in Human Health. *Antioxidants*, *9*(5), 451. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>

- Tenore, G. C., Campiglia, P., Giannetti, D., & Novellino, E. (2015). Simulated gastrointestinal digestion, intestinal permeation and plasma protein interaction of white, green, and black tea polyphenols. *Food Chemistry*, 169, 320-326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.006>
- Tenorio-Garcia, E., Araiza-Calahorra, A., Simone, E., & Sarkar, A. (2022). Recent advances in design and stability of double emulsions: Trends in Pickering stabilization. *Food Hydrocolloids*, 128, 107601. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107601>
- Timbe, M. F. (2011). *El estudio investigativo de la fruta de caimito y su diversa aplicación a la gastronomía*. Universidad Tecnológica Equinoccial, Escuela de gastronomía.
- 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/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144>
- Tomida, H., Yasufuku, T., Fujii, T., Kondo, Y., Kai, T., & Anraku, M. (2010). Polysaccharides as potential antioxidative compounds for extended-release matrix tablets. *Carbohydrate Research*, 345(1), 82-86. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.10.015>
- Valero-Cases, E., Nuncio-Jáuregui, N., & Frutos, M. J. (2017). Influence of Fermentation with Different Lactic Acid Bacteria and in Vitro Digestion on the Biotransformation of Phenolic Compounds in Fermented Pomegranate Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(31), 6488-6496. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04854>
- Vallejo, G., & García, J. (1982). *Perspectivas terapéuticas de los frutos del Chrysophyllum cainito en el tratamiento de la papilomatosis canina* [Tesis de grado]. Universidad del Tolima.

- Warnakulasuriya, S., Pillai, P. K. S., Stone, A. K., & Nickerson, M. T. (2018). Effect of the degree of esterification and blockiness on the complex coacervation of pea protein isolate and commercial pectic polysaccharides. *Food Chemistry*, 264, 180-188. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.036>
- Weinbreck, F., Minor, M., & De Kruif, C. G. (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum arabic coacervates. *Journal of Microencapsulation*, 21(6), 667-679. <https://doi.org/10.1080/02652040400008499>
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1), 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- Xue, H., Feng, J., Tang, Y., Wang, X., Tang, J., Cai, X., & Zhong, H. (2024). Research progress on the interaction of the polyphenol–protein–polysaccharide ternary systems. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s40538-024-00632-7>
- Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jimenez, J., Marquez, M., & Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y perspectiva*, 21, 313-319.
- You, L., Zhao, M., Regenstein, J. M., & Ren, J. (2010). Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 120(3), 810-816. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.018>

- Yuan, Y., Yin, M., Chen, L., Liu, F., Chen, M., & Zhong, F. (2022). Effect of calcium ions on the freeze-drying survival of probiotic encapsulated in sodium alginate. *Food Hydrocolloids*, 130, 107668. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107668>
- Zambrano Vélez, M. I., Vera Zambrano, A. M., & Vera Arteaga, T. A. (2024). Microencapsulación en la industria alimentaria: Avances y tendencias actuales. *CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROPECUARIA*, 9(2), 51-60. <https://doi.org/10.24054/cyta.v9i2.3108>
- Zapata, L. M. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria (disertación doctoral)*. [Tesis doctoral]. Universidad Politécnica de Valencia.
- Zeng, C., Li, Y., Ma, J., Niu, L., & Tay, F. R. (2019). Clinical/Translational Aspects of Advanced Glycation End-Products. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 30(12), 959-973. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.08.005>
- Zhang, X., Zeng, Q., Liu, Y., & Cai, Z. (2021). Enhancing the resistance of anthocyanins to environmental stress by constructing ovalbumin-propylene glycol alginate nanocarriers with novel configurations. *Food Hydrocolloids*, 118, 106668. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106668>