

INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE CALKINÍ

“Toxicidad *in vivo* de extracto de antocianinas y evaluación físico-química de microcápsulas de antocianinas de la cáscara de *Chrysophyllum cainito* L.”

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**EGRESADO:
ZALMA DANARA HUCHIN PECH**

**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 **45727**
P/03/25/689

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

MODALIDAD: TESIS

C. ZALMA DANARA HUCHIN PECH 6762
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
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 M. EN C. EMMANUEL DE JESÚS CHI GUTIERREZ, y el co-director DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: **"TOXICIDAD IN VIVO DE EXTRACTO DE ANTOCIANINAS Y EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE MICROCÁPSULAS DE ANTOCIANINAS DE LA CÁSCARA DE CHRYSOPHYLLUM CAINITO L."**.

ATENTAMENTE

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

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

C.c.p. Archivo



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



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24000 Tel. 996-8134870,
e-mail: ee_dcalkini@tecnm.mx | itescam.edu.mx



AGRADECIMIENTOS

Primeramente, le doy gracias a **Dios** por regalarme salud y bendiciones que me permitieron seguir adelante en cada momento de mi vida, por ser mi guía y fuerza a lo largo de mi carrera y permitir concluir este trabajo.

A mis padres **Evelia Pech** y **Manuel Huchin** por apoyarme en este largo camino, por todos los sacrificios que realizaron para mi bienestar, por ser mi mayor sustento y motivación para seguir adelante, por el reflejo de orgullo en sus ojos hacia a mí, por enseñarme a que nada es imposible si te lo propones y no importa que tan difícil sea siempre habrá una solución ¡Gracias por todo!

A mis abuelos **Romualda Brito** y **Juan Pech** que aun que ahora ya no se encuentren conmigo, fueron el empujoncito y motivación para comenzar este viaje.

A mis hermanos **Luis Huchin**, **Henry Huchin**, **Ansony Huchin** y **Shiara Huchin** que siempre estuvieron conmigo apoyándome en cada una de mis decisiones, por siempre aconsejarme para tomar el mejor camino y enseñarme como enfrentar la vida.

A mis apreciables amigas **Onely Kantún**, **Cecilia Cohuó** y **Cecilia Loeza** que fueron mi gran equipo de trabajo, mi otra familia, a ellas que siempre estuvieron para mí en mis momentos más felices y tristes, por el apoyo mutuo que nos brindábamos para no dejarnos vencer y no permitir que ninguna se rinda.

Al **Dr. Víctor Moo Huchin** y **MC. Emmanuel Chi Gutiérrez** por compartir sus conocimientos, brindarme las herramientas y orientarme para mejorar en este ámbito, gracias por su paciencia y dedicación.

A mis amigos de la escuela, laboratorio y albergue por brindarme su amistad, por no dejar que me rinda y por las risas que nunca faltaron, por cada experiencia nueva que me hicieron sentir y todos los bellos momentos que crearon a mi lado.

¡GRACIAS!

RESUMEN

Las antocianinas son pigmentos vegetales de gran interés para la industria alimentaria y cosmética. Sin embargo, estos pigmentos presentan inestabilidad para conservar sus propiedades bioactivas, siendo afectados por varios factores (pH, oxígeno, luz, temperatura entre otros) que se presentan durante su extracción, procesamiento y almacenamiento. Una alternativa para mejorar la estabilidad de las antocianinas es la microencapsulación, esta técnica protege el ingrediente activo encapsulado y logra obtener una liberación controlada, mejorando su bioaccesibilidad. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la toxicidad *in vivo* de un extracto de antocianinas y las propiedades físico-químicas de microcápsulas de antocianinas de la cáscara de *C. cainito*. El extracto de antocianinas se obtuvo mediante extracción asistida por ultrasonidos, utilizando una solución de ácido cítrico como disolvente. Los extractos liofilizados se sometieron a distintos tratamientos de microencapsulación utilizando doble emulsión seguido de coacervación compleja con diferentes concentraciones de polímeros de gelatina bovina tipo A (1.5 y 2.0 %), goma arábica (1.5 y 2.0 %) y solución de emulsión primaria (55 y 75 mL); posteriormente, la fase coacervada obtenida se liofilizó para obtener el polvo de microcápsulas. Se evaluaron las propiedades físico-químicas de las microcápsulas liofilizadas como el color, morfología, tamaño de partícula, FTIR y toxicidad *in vivo* del extracto de antocianinas con *Galleria mellonella*. Los coacervados de antocianinas obtenidos a partir de cuatro tratamientos mostraron una variabilidad de sus diámetros. El tratamiento T1 presentó valores más altos de color CIE con respecto al resto de los tratamientos. La morfología de las microcápsulas MPL mostró estructuras esféricas con superficie lisa de tipo mononuclear y polinuclear, mientras que para las microcápsulas ML mostraron una forma vítrea irregular con superficie porosa. Se determinó que una DL50 de 11.28 mg de extracto seco/g de larva reduce la supervivencia *G. mellonella* en un 50 %. Los estudios FTIR revelaron que existe interacción de la GA y GB con las microcápsulas de antocianinas de *C. cainito*. Se puede concluir que la variación del porcentaje de polímeros y el volumen de emulsión por coacervación compleja influyeron en los resultados de las propiedades físico-químicas de las microcápsulas, principalmente en microcápsulas de antocianinas de menor diámetro.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Caimito (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.).....	4
2.2. Características fisicoquímicas de la fruta.....	8
2.3. Aprovechamiento de la fruta	10
2.4. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la cáscara <i>C. cainito</i> . 11	
2.4.1. Compuestos bioactivos	11
2.5. Antioxidante	12
2.6. Antocianinas	13
2.6.1. Factores químicos que afectan la estabilidad de las antocianinas.....	16
2.7. Modelo in vivo con <i>Galleria mellonella</i> para evaluar la toxicidad	20
2.7.1. Sistema inmunológico	21
2.8. Agente encapsulante	23
2.9. La coacervación compleja como método de microencapsulación de compuestos bioactivos.....	23
2.9.1. Emulsión doble	23
2.9.2. Coacervación compleja.....	26
2.9.3. Microencapsulación	27
2.9.4. Métodos de secado.....	29
2.10. Estudio de microencapsulación por coacervación compleja	33
3. OBJETIVOS.....	40
3.1. Objetivo general	40
3.2. Objetivos específicos	40

4. JUSTIFICACIÓN.....	41
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
5.1. Obtención de cáscara liofilizado de caimito (<i>Chrysophyllum cainito</i> L.)	43
5.2. Extracción asistida por ultrasonidos de antocianinas.....	43
5.3. Toxicidad in vivo de extracto de antocianinas.....	43
5.4. Preparación de microcápsulas de antocianinas utilizando doble emulsión seguido por coacervación compleja	44
5.5. Métodos analíticos	45
5.5.1. Tamaño de partícula de coacervado.....	45
5.5.2. Color CIELAB.....	46
5.5.3. FTIR.....	46
5.5.4. Morfología SEM	46
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
6.1. Color CIELAB.....	47
6.2. Morfología SEM	48
6.3. Diámetro de coacervado en solución	50
6.4. Toxicidad.....	52
6.5. Espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR).....	55
7. CONCLUSIÓN.....	58
8. BIBLIOGRAFÍA.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de caimito (<i>C. cainito</i> L.)	5
Figura 2. Corteza externa del árbol de caimito.....	6
Figura 3. Hojas de caimito (<i>C. cainito</i> L.)	6
Figura 4. Flor de Caimito (<i>C. cainito</i> L.).....	7
Figura 5. Fruto de Caimito (<i>C. cainito</i> L.)	8
Figura 6. Pulpa del caimito (<i>C. cainito</i> L.).....	8
Figura 7. Licuado de Caimito.....	10
Figura 8. Compuestos bioactivos encontrados en los alimentos clasificados según su naturaleza química	11
Figura 9. Transferencia de un átomo de hidrogeno (HAT)	12
Fuente: (Mendoza Isaza et al., 2020).....	12
Figura 10. Transferencia de un electrón (SET)	13
Figura 11. Estructura de las Antocianinas.....	14
Figura 12. Transformación estructural de antocianinas a diferentes pH	18
Figura 13. Ciclo de vida de <i>Galleria mellonella</i> : (1) huevos; (2) oruga; (3) prepupa; (4) pupa; (5) forma adulta.	20
Figura 14. Emulsiones simples.....	24
Figura 15. Emulsiones dobles o múltiples	25
Figura 16. Formación de emulsión doble	25
Figura 17. Técnica de coacervación compleja	27
Figura 18. Cubrimiento de Microcápsulas	27
Figura 19. Tipos de microencapsulados.....	28
Figura 20. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas tipo matriz	28
Figura 21. Fases de la liofilización	29

Figura 22. Ciclo de liofilización: 1ª Congelación; 2ª Secado primario; 3ª secado secundario.....	30
Figura 23. Proceso de secado por aspersion.....	32
Figura 24. Estrategia general de trabajo	42
Figura 25. Microfotografías de las microcápsulas coacervados de antocianinas de <i>C. cainito</i> . A) Microcápsulas coacervados (sin liofilizar) visto desde un microscopio biológico binocular (40 X). B) Microcápsulas coacervadas liofilizadas (aumento 250 X) y C) Microcápsulas coacervadas liofilizadas (aumento 1000 X). T1= 1.5 % polímeros y 55 mL solución núcleo; T2= 1.5 % polímeros y 75 mL solución núcleo; T3= 2.0 % polímeros y 55 mL solución núcleo y T4= 2.0 % polímeros y 55 mL solución núcleo.	49
Figura 26. Distribución de tamaño de los coacervados de antocianinas de la cáscara de caimito	52
Figura 27. Curva de supervivencia de larvas <i>G. mellonella</i> en función de mg de extracto seco/g de larva	53
Figura 28. Curva de sobrevivencia por tiempo	55
Figura 29. Espectros FTIR de gelatina bovina (GE), goma arábica (GA) y microcápsulas de antocianina de <i>C. cainito</i> (T1, T2, T3 y T4).	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Caimito (<i>C. cainito</i> L.)	4
Tabla 2. Composición química de la pulpa de caimito en 100 g.....	9
Tabla 3. Características fisicoquímicas del fruto de caimito	10
Tabla 4. Sustituyentes de las antocianinas	14
Tabla 5. Grupo de frutas con diferentes tipos de antocianinas.....	16
Tabla 6. Estructuras químicas de las antocianinas dependiendo del valor de pH.....	17
Tabla 7. Diferentes tipos de hemocitos y sus funciones.....	21
Tabla 8. Estudios recientes sobre microencapsulación de compuestos bioactivos por el método de coacervación compleja	33
Tabla 9. Tratamientos de microencapsulación de antocianinas a distintas concentraciones de polímeros y volumen de emulsión	45
Tabla 10. Parámetros de color instrumental de las microcápsulas de antocianinas extraídas de cáscara de <i>C. cainito</i>	48

1. INTRODUCCIÓN

El caimito (*Chrysophyllum cainito* L) es una fruta tropical distribuido en la Península de Yucatán, el cual pertenece a la familia de las Sapotáceas y se cree que es originario de las Antillas. Existe dos variedades de caimito de acuerdo con el color de su cáscara; morado y verde, en donde el caimito de cáscara morada se caracteriza por tener un sabor más dulce, mientras que el de cáscara verde tiene la característica de mostrar un olor más intenso (Zambrano et al., 2013). El árbol de caimito es comúnmente utilizado en la medicina tradicional elaborando infusiones con las hojas, semillas y madera para tratar ciertos padecimientos. El producto más importante del árbol de *C.cainito* es su fruto. De acuerdo con Yahia & Gutierrez-Orozco, (2011), describieron que la fruta entera está constituida por 60 % de cáscara, 37 % de pulpa comestible y 3 % de semillas. En un estudio realizado por Rymbai et al., (2015), reportaron que 100 g de pulpa comestible aporta 67.2 g de calorías, 14.65 g de carbohidratos, 7.4-17.3 mg de calcio y 0.72-2.33 g de proteína, además de contener diversos antioxidantes (lisina, tiamina, caroteno, aminoácidos, ácido ascórbico entre otros). Con el poco conocimiento que se tiene en la composición del fruto, se cree que solo la pulpa es el único portador de vitaminas, minerales y compuesto bioactivos, descartando la cáscara como residuo sin aprovechar. A través de un estudio realizado por Moo-Huchin et al., (2015) encontraron que la cáscara liofilizada de caimito morado tiene un contenido considerable de vitamina C, antocianinas, compuestos fenólicos (ácido ferúlico, ácido gálico, ácido elágico, miricetina), flavonoides, carotenoides y una alta actividad antioxidante. Por tal motivo, la cáscara de caimito ha tomado una relevancia para su uso y desarrollo en productos alimenticios funcionales o farmacéuticos, esto debido a sus propiedades bioactivas y su alto contenido de compuestos fenólicos (principalmente antocianinas).

Las antocianinas presentes en la cáscara de caimito son las responsables de darle esa característica tonalidad morada a la fruta. Como se sabe, las antocianinas son pigmentos polifenólicos naturales que están ampliamente distribuidas en los alimentos, principalmente en flores, frutas y verduras, además, son conocidas por su efecto

beneficioso a la salud humana debido a su actividad como antioxidante, previniendo ciertas enfermedades crónicas (cardiovasculares, neurodegenerativas y diabetes) (Zhang & Zhu, 2023). Si bien, en la actualidad el empleo de antocianinas para el desarrollo de alimentos funcionales o bien, empleado como pigmentos naturales para alimentos se ha ido extendiendo a tal grado que se busca la manera de preservar sus propiedades para que puedan cumplir con su funcionalidad, ya que presentan desventaja, y es que tienden a ser inestables, es decir, que son muy sensibles a factores circundantes como el pH, el oxígeno, la luz y la temperatura, las cuales pueden presentarse durante los procesos de extracción, procesamiento y almacenamiento, teniendo como resultado su rápida degradación y un lento metabolismo en el tracto gastrointestinal, limitando su bioaccesibilidad y biodisponibilidad (Otto et al., 2024; Xue et al., 2023). A raíz de esta problemática, Ku Canul, (2021) realizó una investigación acerca de la estabilidad de las antocianinas, sometiendo a diferentes pH y temperaturas a antocianinas extraídas de la cáscara de caimito, encontrando una mejor estabilidad cuando fueron almacenadas a bajas temperaturas (4 °C) y con pH de 4.3, obteniendo una vida media ($t_{1/2}$) de 40.83 ± 3.89 días, mientras que ese mismo extracto de antocianinas almacenadas a 24 °C y pH de 2.5 mostraron menor estabilidad, con una baja vida media de 1.19 ± 0.15 días.

Una alternativa para mejorar la conservación del contenido de antocianinas y su bioaccesibilidad es la microencapsulación. La microencapsulación tiene como objetivo proteger sustancias sensibles a factores externos incrementando su estabilidad, enmascarar las propiedades organolépticas, mejorar su liberación y absorción del compuesto, permitiendo realizar su acción en el lugar adecuado (Sanguansri & Augustin, 2006). Para ello, buscar la mejor técnica para llevar a cabo la microencapsulación dependerá del tamaño deseado de partícula, la sustancia a encapsular, el tipo de agente encapsulante, así como la agilidad de su aplicación y costo (Munin & Edwards-Lévy, 2011). La coacervación compleja es la segunda técnica más utilizada para la encapsulación de sustancias en las industrias alimentarias ya que se obtuvo una mayor eficiencia de encapsulación, alta estabilidad, así como el control de su liberación bajo mecanismos físicos y biológicos, además es conocida por su simplicidad, bajo costo, escalabilidad y reproducibilidad. La coacervación compleja

se obtiene a través de las interacciones iónicas que existe entre dos o más polímeros con cargas opuestas en medios acuosos y en equilibrio electrostático, generalmente estos polímeros son proteínas y polisacáridos que actuarán como la pared que cubrirán el compuesto, y esto ocurre cuando la proteína donante se encuentra en un rango de pH por debajo su punto isoeléctrico (Aloys et al., 2016). Los biopolímeros utilizados por primera vez como materiales de pared para la microencapsulación por coacervación compleja fueron la gelatina y goma arábiga, siendo estas el polímero catiónico y polímero aniónico más utilizado, respectivamente (Nezamdoost-Sani et al., 2024). Sin embargo, se debe tener en cuenta los factores que tiene una gran influencia en la formación de la microencapsulación por el método de coacervación compleja como la temperatura, fuerza iónica, el pH y principalmente la selección del material de pared, así como la concentración, la naturaleza de las sustancias del núcleo y la relación núcleo-pared (Timilsena et al., 2019).

Debido a que el extracto de antocianinas extraídas de las cáscaras de *C. cainito* tienen poca estabilidad a diferentes condiciones de temperatura, pH y luz; es conveniente investigar el efecto de la microencapsulación por coacervación compleja como método para resolver las limitantes de su aplicabilidad. En el presente trabajo se tuvo como objetivo evaluar las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y toxicidad usando *Galleria mellonella* de microcápsulas de antocianinas de *C. cainito* L. obtenidas mediante coacervación compleja.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Caimito (*Chrysophyllum cainito* L.)

El caimito (*C. cainito* L.) es un árbol perteneciente a la familia de las Sapotáceas adaptada a climas tropicales y subtropicales; además su familia está conformada por aproximadamente 800 especies (Álvarez et al., 2004). En la Tabla 1 se muestra la información sobre la clasificación ordenada y jerárquica de *C. cainito* L.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Caimito (*C. cainito* L.)

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

Fuente: (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016)

Se cree que *Chrysophyllum cainito* L. es nativo de las Antillas (García Orozco, 1998), tiene una extensa distribución por México en algunas zonas tropicales como en los estados cálidos de Morelos, Golfo de México y en la Península de Yucatán, así como en Florida, en toda América tropical y en las islas del Caribe, ocasionalmente se puede encontrar en Argentina y Perú (Mar Jiménez & Vargas Simón, 2021).

El caimito se conoce de distinta manera, según el país en la que se encuentre y se desarrolle, generalmente caimito o estrella en España; star apple en USA, *cainito* o *ajara* en Portugal; *caimite* o *ma's caimitier* en Francia; *caimite* en Haití; *caimo* en Colombia; *caimitero* o *murucuja* en Bolivia; *damsel* en Belice; *guayabillo* en el Salvador; *aguay* u *olivoa* en Argentina (Santamaria Herrería, 2004). CICY, (2010), menciona que en la península de Yucatán se hace destacar en nombres comunes como el caymito, caimitillo y cayumito silvestre (español) y chi'kéej (maya).

El árbol es de mediana altura con un gran porte y copa amplia de tipo pendiente que puede llegar a medir entre 10 a 15 m e incluso hasta los 40 m de altura (Figura 1), tiene un tronco recto a ligeramente irregular con un diámetro de 40 cm, su corteza externa presenta fisuras de color café grisácea a gris oscura y una corteza interna amarilla con látex blanco y pegajoso (Figura 2) (Nogales Herrera, 2007).



Figura 1. Árbol de caimito (*C. cainito* L.)

Fuente: Elaboración propia



Figura 2. Corteza externa del árbol de caimito

Fuente: Elaboración propia

Sus hojas tienen uno de los follajes más atractivos entre los árboles tropicales como lo menciona Carranza Zúñiga (2020), son simples con tamaño de 8 a 12 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho, tienen forma elíptica y ápice acuminado, son de tonalidad verde oscuro y lustroso en la parte superior, dorado café en la parte inferior con reflejos plateados (Figura 3) (Rojas Rodríguez & Torres Córdoba, 2012)



Figura 3. Hojas de caimito (*C. cainito* L.)

Fuente: Elaboración propia

Las flores son de tonalidad blanco-amarillentas de un tamaño pequeño (Figura 4) aglomeradas en las axilas de las hojas, de un aproximado de 6 a 9 mm (Rojas Rodríguez & Torres Córdoba, 2012), tienen 5 sépalos las cuales están densamente cubiertas de pelos ferrugíneos, una corola de 3-5.5 mm de largo y 5 lóbulos redondeado con un largo más o menos que el tubo, y exteriormente son ferrugíneo-sedosos, los estambres son tantos como lóbulos de la corola, e insertos en la garganta, tienen filamentos muy cortos (Santamaria Herrería, 2004). Su período de floración se genera entre septiembre y noviembre con una producción posible entre los meses de Febrero a Mayo (Carranza Zúñiga, 2020).



Figura 4. Flor de Caimito (*C. cainito* L.)

Fuente: <https://mexiconservacion.wordpress.com/2014/01/31/caimito/>

Su fruta es una baya redonda u ovalada con un diámetro de 5 a 10 cm, tiene un característico color púrpura o verde según su variedad, con una textura lisa y consistencia blanda (Figura 5). Dentro del fruto contiene una pulpa carnosa de color blanco y sabor dulce, con semillas en el centro (Figura 6) (Nogales Herrera, 2007). El fruto contiene un gran valor nutrimental en donde se destaca las calorías, grasas, proteínas, calcio, fibra, fósforo, hierro, vitaminas A, C y B, muy rico en carbohidratos y contiene un alto porcentaje de azúcar (Arizaleta et al., 2014).



Figura 5. Fruto de Caimito (*C. cainito* L.)

Fuente: Elaboración propia



Figura 6. Pulpa del caimito (*C. cainito* L.)

Fuente: Elaboración propia

2.2. Características fisicoquímicas de la fruta

El conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos permite caracterizar las materias primas para determinar su aprovechamiento industrial (Salamanca et al., 2011). En la Tabla 2 se muestra la composición química del fruto de caimito, expresado con base en 100 g de pulpa, en ella se observa un alto contenido de humedad (78.4-85.7 %) superior a las frutas tropicales producidos en Yucatán, tales como marañón, guanábana y zapote mamey que presentaron una humedad de 72 %-79 %, datos registrados por Púa-Rosado et al., (2020). Igualmente, en la pulpa de caimito se observa la presencia de minerales con valores altos, principalmente el calcio (7.4-17.3 mg) y fósforo (15.9-22.0 mg).

Tabla 2. Composición química de la pulpa de caimito en 100 g

Componente	Valor
Calorías	67.2
Humedad (%)	78.4-85.7
Proteína (g)	0.72-2.33
Grasa (g)	1.6
Carbohidratos totales (g)	14.65
Fibra (g)	0.55-3.30
Ceniza (g)	0.35-0.72
Calcio (mg)	7.4-17.3
Fosforo (mg)	15.9-22.0
Hierro (mg)	0.30-0.68
Vitamina A (mg)	5.0
Tiamina (mg)	0.018-0.08
Riboflavina (mg)	0.013-0.04
Niacina (mg)	0.935-1.340
Acido ascórbico (mg)	3.0-15.2
Fenoles totales (mg)	217.0-387.1

Fuente: (Gazel Filho, 1995; Yahia & Gutierrez-Orozco, 2011)

Una de las principales característica presente en el fruto de caimito, además de su color, es su dulzor, por ello en la Tabla 3 se presenta las características fisicoquímicas encontradas en el fruto de caimito, el cual según Gómez Marquez & Urrea Ciro, (2016) registra un alto contenido de azúcares totales (90.8 mg/g), un pH de 5.8 y una acidez de 0.14%, similar a las frutas analizadas por Torres et al., (2013) donde registra un pH entre 2 y 6 y un valor de acidez entre 0.08 % y 6.5 % en fruta de mango, papaya hawaiana, maracuyá y plátano.

Tabla 3. Características fisicoquímicas del fruto de caimito

<i>Propiedad fisicoquímica</i>	<i>Contenido</i>
<i>pH</i>	5.8
<i>% Acidez</i>	0.14
<i>Sólidos solubles (°Brix)</i>	10.6
<i>Azúcares totales (mg/g)</i>	90.8

Fuente:(Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016)

2.3. Aprovechamiento de la fruta

El árbol de caimito (*C. cainito* L.) tiene una gran importancia en el área agronómica y forestal, pero debido a su poco conocimiento e investigación se desconoce sobre su potencial como fruto de gran valor nutrimental. El caimito se consume principalmente en fresco, aunque en algunas regiones se suele preparar en mermeladas y jaleas con la pulpa, así como conservas, dulces y licuados (Figura 7). Por su parte las semillas se pueden usar para preparar bebidas similares a la leche de almendras, turrone y otros productos de confitería (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016).

Asimismo, Mar Jiménez & Vargas Simón (2021) mencionan que la hoja del árbol tiene propiedades medicinales, en el cual se ha identificado alcaloides y compuestos fenólicos como los flavonoides, esterole y triterpenos, las cuales son utilizadas para padecimientos de hipertensión y artritis reumatoide.



Figura 7. Licuado de Caimito

Fuente:

<https://www.economiafamiliar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento9011389.pdf>

2.4. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la cáscara *C. cainito*

2.4.1. Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos (CB) son conocidos como nutraceuticos, es decir, metabolitos secundarios de origen vegetal y animal que aporta un beneficio a la salud del ser humano, siendo vitales para el funcionamiento de ciertas funciones corporales. Los compuestos bioactivos son clasificados en inorgánicos y orgánicos, que pueden ser encontrados en los alimentos (Gámez Villazana, 2020).

Dentro de los compuestos bioactivos o también conocidos como fitoquímicos bioactivos (cuando se trata en el reino vegetal), se puede encontrar de gran cantidad los polifenoles, compuestos azufrados, fitoesteroles, terpenos, carotenoides e isoflavonas que son ampliamente reconocidos por ejercer una diversidad de efectos saludables al ser consumidos en la dieta (Figura 8) (Lutz, 2013).

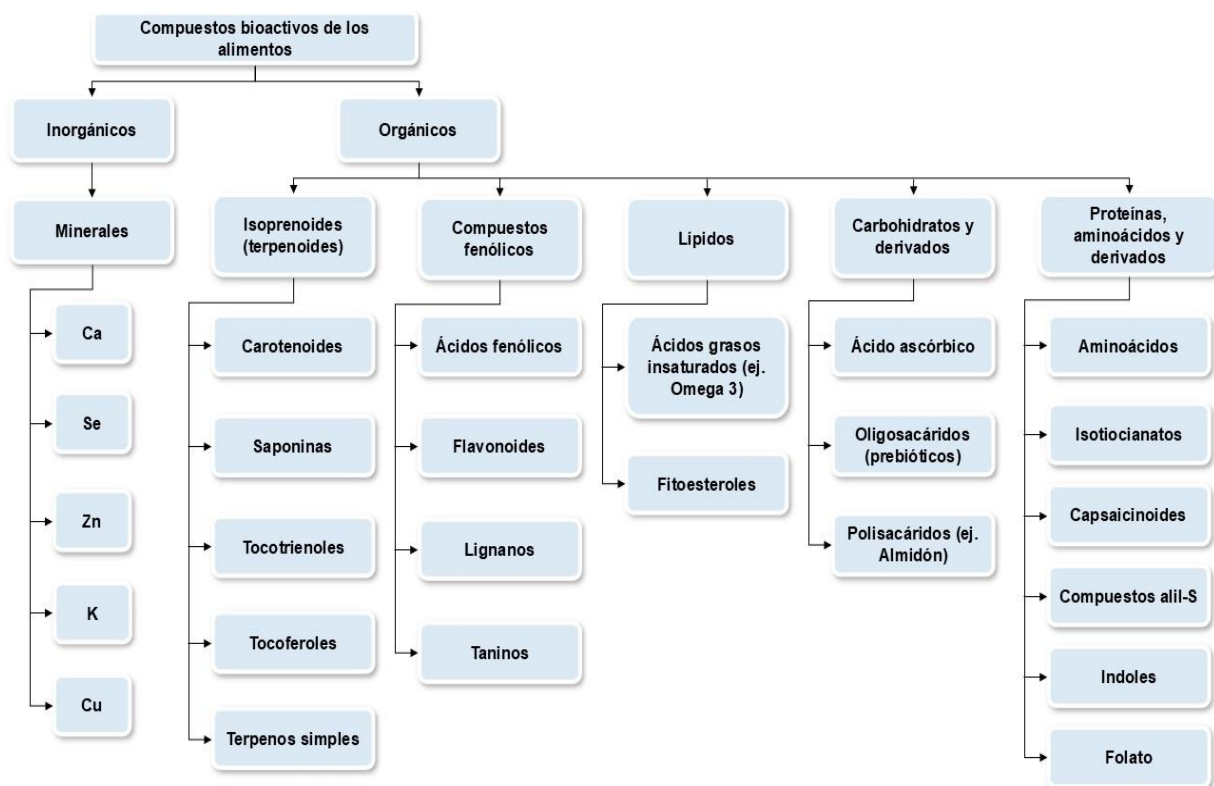


Figura 8. Compuestos bioactivos encontrados en los alimentos clasificados según su naturaleza química

Fuente: (Gómez Romero, 2011)

2.5. Antioxidante

Un antioxidante es definido como sustancia que cuando está a bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable retarda o previene la oxidación de dicho sustrato (Álvarez Parrilla et al., 2012), es decir, son compuestos que pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhabilitando la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres (Avello & Suwalsky, 2006). Según el actuar de los antioxidantes se puede clasificar como primarios, donde rompen la reacción de oxidación en cadena al secuestrar los radicales libres intermedios; y secundarios, al disminuir la tasa oxidativa al eliminar los iniciadores y aceleradores de la oxidación generando antioxidantes primarios y descomponer hidropéroxidos (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Según el tipo de reacción, los ensayos de capacidad antioxidante se dividen en dos categorías:

- a) **Mecanismos de reacción HAT:** los ensayos basados en el mecanismo HAT (Transferencia de átomo de hidrógeno), cuantifica la capacidad de un antioxidante para eliminar un radical libre mediante la donación de un átomo de hidrógeno (AH) (Figura 9). Estas reacciones son independientes del solvente y pH, siendo por lo general rápidas, ya que se logra llevar a cabo en segundos o en algunos casos minutos. Entre las complicaciones que presenta los ensayos de mecanismo HAT es la presencia de agentes reductores, incluyendo metales resultando de ello una reactividad aparentemente errónea (Ruiz Ciau, 2017).

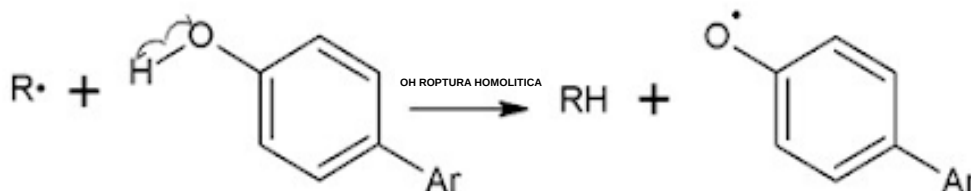


Figura 9. Transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT)

Fuente: (Mendoza Isaza et al., 2020)

- a) **Mecanismo de reacción SET:** en el mecanismo de SET (transferencia de electrón sencilla), miden el potencial de un antioxidante para la transferencia de un electrón en la reducción de cualquier compuesto oxidante, incluyendo metales, carbonilos y los radicales, propiciando cambios de color (Figura 10) (Ruiz Ciau, 2017).

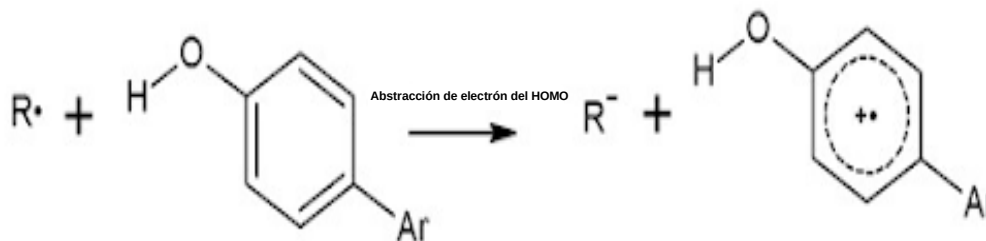


Figura 10. Transferencia de un electrón (SET)

Fuente: (Mendoza Isaza et al., 2020)

2.6. Antocianinas

Las antocianinas son compuestos polifenólicos naturales que aportan pigmentación a una gran variedad de plantas, frutos, flores y vegetales, desarrollando una gama de colores que van desde el rojo, azul y morado. Además, posee funciones como la atracción de polinizadores para la dispersión de semillas, protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana (Garzón, 2008).

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas que forman parte de la familia de los flavonoides, están compuestas por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C (Garzón, 2008), es decir, que están constituidas por una molécula de antocianidina que es la aglicona, a la que se une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico (Figura 11) (Aguilera Ortíz et al., 2011). Además, existe variaciones estructurales en el anillo B en donde se han descrito 12 antocianinas, las cuales 6 de ellas son las más importantes, como se muestra en la Tabla 4 (De la Rosa Reyna et al., 2022).

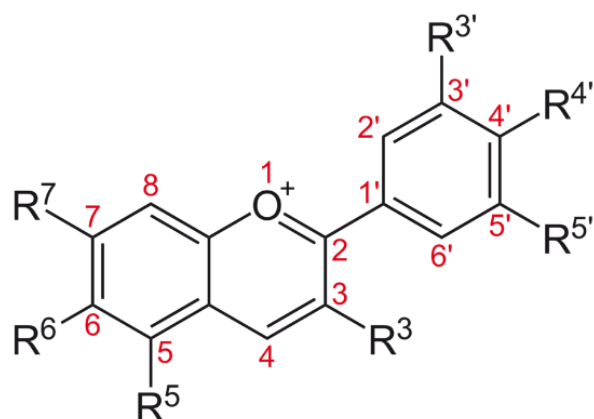


Figura 11. Estructura de las Antocianinas

Fuente: (Durst & Wrolstad, 2001)

Tabla 4. Sustituyentes de las antocianinas

Aglicona	Sustituyentes		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm) Espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvinidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Fuente: (Durst & Wrolstad, 2001)

Las antocianinas dependerán su color al número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula, el incremento en la hidroxilación genera el desplazamiento de tonalidades azules y cuando se incrementa las metoxilaciones se producen coloraciones rojas (Garzón, 2008).

La biosíntesis de antocianina se desarrolla en el citoplasma de la célula, esto se realiza a través de la vía de los flavonoides a partir de dos tipos de genes: estructurales y reguladoras. En las estructurales se codifican las enzimas que participan

directamente a la formación de los compuestos fenólicos, en cambio los reguladores controlan la transcripción de los genes estructurales (De la Rosa Reyna et al., 2022).

La biosíntesis de antocianinas inicia con la condensación de la fenilalanina y acetato a través de la activación de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) que es inducida por estrés, para dar paso a la producción de 4-cumaroil CoA, posteriormente, la chalcona sintasa (CHS) por el cual es inducida por luz y ataques de patógenos, condensa a los precursores de malonil CoA y 4-coumaril CoA para la formación de naringenina-chalcona. Luego el compuesto intermediario C15 es transformado en una flavanona por la chalcona isomerasa (CHI) con el fin de producir la naringenina, y finalmente la flavanona es transformada en antocianina correspondiente por una reacción de hidroxilación en el carbono C3 seguido por una deshidratación (Castañeda Vázquez, 2010; Dios López et al., 2011).

Para ser más precisos, en un experimento realizado por Garzón, (2008) se demostró que el anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta del ácido malónico con la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta de ácido shikímico esto siendo el que da paso a la fenilalanina.

Las antocianinas pueden tener presencia en diferentes órganos de las plantas, tales como en frutas, flores, tallos, hojas y raíces, estas pueden ser normalmente encontradas disueltos uniformemente en solución vacuolar de células epidérmicas, y en ciertas especies pueden ser localizadas en regiones discretas de la vacuola celular llamada antocianoplastos (Aguilera Ortiz et al., 2011). La Tabla 5 muestra la distribución de diversas estructuras químicas de antocianinas en una variedad de frutas tales como arándano morado, uva morada, uva y arándano rojos.

Tabla 5. Grupo de frutas con diferentes tipos de antocianinas

Frutilla	Antocianidina					
	Dp	Cy	Pt	Pg	Pn	Mv
Arándano morado	+	+	+		+	+
Uva morada	+	+	+	+	+	+
Uva roja	+	+	+		+	+
Arándano rojo	+	+		+	+	+
Fresa		+		+		
Zarzamora		+		+	+	
Mora		+		+	+	
Frambuesa roja		+		+		
Frambuesa negra		+		+	+	
Cereza		+		+	+	

Fuente: (Antonio Gómez, 2015)

Abreviaturas: Dp: delfinidina, Cy: cianidina, Pt: pelargonidina, Pg: petunidina, Pn: peonidina, Mv: malvidina.

2.6.1. Factores químicos que afectan la estabilidad de las antocianinas

La incorporación de las antocianinas en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética es sumamente limitada, esto se debe a su baja estabilidad a la presencia de diversos factores desarrollados en el procesamiento hasta el almacenamiento, factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración y actividad de agua (Garzón, 2008).

A) **Efecto pH:** las antocianinas tienen una naturaleza iónica que permite cambios en las estructuras moleculares de acuerdo con su pH, resultando colores y tonalidades diferentes (Tabla 6). En soluciones acuosas incluyendo a los alimentos, las antocianinas pueden existir en cuatro formas estructurales, dependiendo de su pH: la base quinoidal azul (A), el catión flavilio rojo (AH⁺), la base pseudocarbinol incolora (B) y la chalcona incolora (C) (Figura 12) (Guadalupe Pacahuala, 2014).

Tabla 1. Estructuras químicas de las antocianinas dependiendo del valor de pH

	Estructura	Color
<2	Catión flavilio	Rojo intenso
2-7	Pseudobase carbinol o Chalcona	Incoloro
>7	Quinoidales	Azul-Púrpura

Las antocianinas con valores de pH menores a 2 adoptan una estructura de tipo ión oxonio o catión flavilio dando paso al color rojo intenso, debido a la conjugación extendida entre los dos fragmentos aromáticos. A un valor de pH alrededor de 2 y 7, las antocianinas adoptan estructuras de pseudobase carbinol o hemiacetal y chalcona dando un color incoloro, esto ocurre porque las moléculas experimentan un ataque nucleofílico sobre el C2 por parte de una molécula de agua teniendo una pérdida en su doble enlace conjugado entre los anillos A y B impidiendo la absorción de luz visible. A un valor de pH superior a 7 toma una estructura de tipo quinoidales dando lugar al color púrpura; es debido a la pérdida rápida de protones (Garzón, 2008; Rabanal-Atalaya & Medina-Hoyos, 2021).

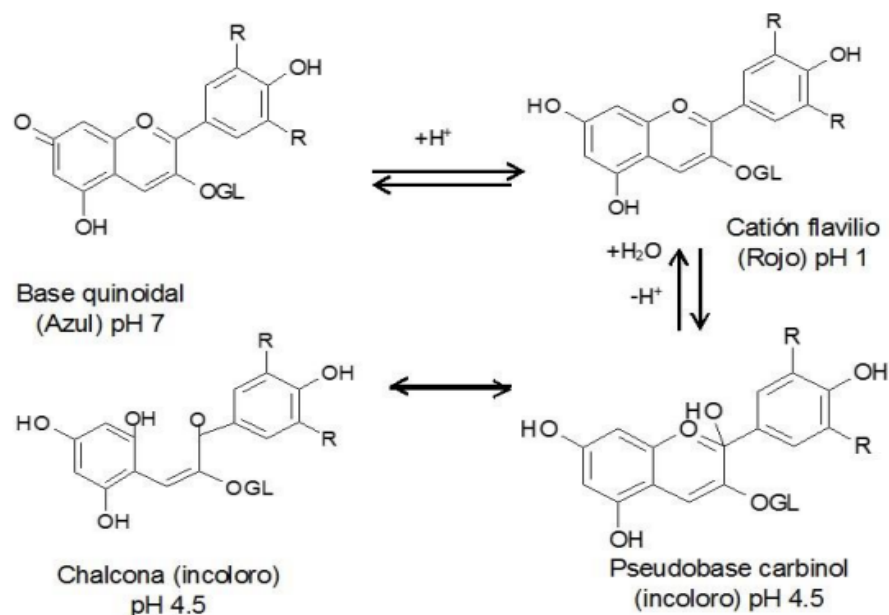


Figura 12. Transformación estructural de antocianinas a diferentes pH

Fuente: (Valencia Arredondo, 2015)

- B) **Efecto de la temperatura:** otro factor que interviene a la inestabilidad de las antocianinas es la temperatura. La alta temperatura que se utiliza en el procesamiento de alimentos provoca una disminución del contenido de antocianinas. Cuando incrementa la temperatura en el procesamiento de alimentos hay una tendencia a la pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura del anillo con la consecuente producción de chalconas incolora (Garzón, 2008).
- C) **Efecto del oxígeno y el ácido ascórbico:** ciertos estudios realizados determinaron que el oxígeno y el ácido ascórbico influyen mucho en la degradación de las antocianinas. En presencia del oxígeno, las antocianinas tienen una acelerada degradación debido a los mecanismos oxidativo directo y/o mediante la acción de enzimas oxidantes teniendo un efecto más severo en el color (Chávez Miranda, 2014). Por otro lado, el ácido ascórbico también muestra un impacto negativo en la estabilidad de las antocianinas, aquí se produce la condensación de ácido ascórbico y el carbono cuatro de la molécula de

antocianina causando la pérdida de ambos (Antonio Gómez, 2015). Hendry & Houghton, (1996) encontraron que a altos niveles de oxígeno y el ácido ascórbico reduce la estabilidad de las antocianinas en jugo de arándano. La pérdida del pigmento de las antocianinas en varias frutas ha ocurrido bajo condiciones que favorecen a la oxidación del ácido ascórbico esto debido concentraciones altas de oxígeno, en donde el ácido ascórbico induce a la destrucción de las antocianinas debido a la oxidación directa de los peróxidos formados durante la oxidación aeróbica del ácido ascórbico (Guadalupe Pacahuala, 2014).

D) **Luz:** el efecto de la luz sobre las antocianinas actúa de dos maneras diferente: en la primera esta se vuelve esencial para la biosíntesis de las antocianinas, y a su vez esta misma actúa como factor de aceleración en la degradación. En un registro se observó que las antocianinas conservan mejor su color si se mantienen en la oscuridad, esto se observó después de una comparación de 24 h de almacenamiento en la luz y en la oscuridad a una temperatura ambiente con un pH de 2.3 (Rein, 2005). Entre el tipo de luz en la que las antocianinas han sido expuestas, se ha determinado que la que menos afecta es la fluorescente, seguida por la incandescente, la ultravioleta y la infrarroja (Ruiz Ulric, 2001).

E) **Concentración de pigmento y actividad de agua:**

Otros factores que afectan la estabilidad del color de las antocianinas son la concentración del pigmento y su actividad de agua, para su comprobación se realizó una comparación de la estabilidad de la antocianina de fresa (pelargonidina-3-glucósido) con la de la antocianina de la cáscara de rábano (pelarganidina-3-soforósido 5-glucósido acilada con ácidos aromáticos y alifáticos) en donde se encontró que dicha estabilidad era independiente de la estructura a una misma concentración de pigmento. Así mismo, incrementos en la actividad de agua causan degradación de las antocianinas debido a una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio para formar la pseudobase inestable (Antonio Gómez, 2015).

2.7. Modelo *in vivo* con *Galleria mellonella* para evaluar la toxicidad

G. mellonella, especie perteneciente al orden Lepidoptera y parte de la familia Pyralidae, es un parásito ubicuo en las colmenas de abejas, avispas y abejorros, alimentándose de la miel, cera, heces, polen y capullos. Su ciclo de vida es holometábolo, teniendo cinco etapas de desarrollo: huevo, oruga, prepupa, pupa y adulto como se muestra en la Figura 13. Los huevos se convierten en orugas después de 5-8 días y en un aproximado de 6 semanas la oruga madura y crece, ya en la etapa larval toma una forma cilíndrica alargada que puede llegar a medir entre 16 y 20 mm. Entre un aproximado de 8 y 10 mudas que desarrolla desde el día 28 hasta las 6 semanas la oruga deja de alimentarse manteniendo una ligera movilidad, mientras comienza el desarrollo de un capullo de seda dando lugar a la etapa de prepupa, la cual madura en una pupa, inmovilizándose en el capullo. Su forma adulta se presenta después de un periodo entre 4 a 8 semanas; la polilla adulta se presenta de un color marrón rojizo y es activa en la fase nocturna (Giammarino et al., 2024).

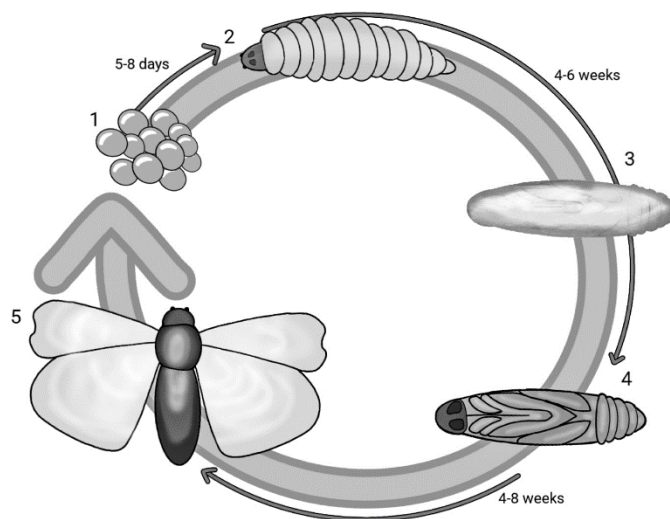


Figura 13. Ciclo de vida de *Galleria mellonella*: (1) huevos; (2) oruga; (3) prepupa; (4) pupa; (5) forma adulta.

Fuente: (Giammarino et al., 2024)

2.7.1. Sistema inmunológico

La respuesta inmune innata de *G. mellonella* consta de dos componentes interconectados estrechamente en respuesta celulares y humorales:

a) Sistema Inmunológico celular

La respuesta celular esta medida por células fagocíticas llamadas hemocitos, encontradas dentro de la hemolinfa, donde cumple una función de manera análoga a la sangre de los mamíferos. Existe diferentes tipos de hemocitos que varían según su forma y función: prohemocitos, plasmaticitos, granulocitos, esferulocitos, enocitoides y coagulocitos (Tabla 7). En *G. mellonella*, los plasmaticitos y granulocitos desempeñan un papel clave en la defensa celular, desarrollando no solo una participación en la fagocitosis, sino también en la encapsulación y nodulación del patógeno invasor (Piatek et al., 2020).

Tabla 7. Diferentes tipos de hemocitos y sus funciones

Células	Descripción	Funciones
Prohemocitos	Células progenitoras	Diferenciarse en varios tipos de células
Plasmaticitos	Enzimas lisosomales más abundantes y presentes en el citoplasma.	Producen factores antimicrobianos, participan en la fagocitosis.
Granulocitos	Núcleo pequeño, gránulos en el citoplasma.	Participar en la fagocitosis directamente en el proceso de encapsulación.
Esferulocitos	Muy grande, altamente polimorfismo, gránulos grandes en el citoplasma.	Transportan y secretan varios componentes cuticulares.

Enocitoides	Forma redonda, núcleo pequeño excéntrico, citoplasma homogéneo, microtúbulos, ribosomas.	Participa en la vía de melanización para secretar ácido nucleico extracelular, participa en el secuestro de patógenos; activación de la coagulación.
Coagulocitos	Célula esférica, núcleo grande, citoplasma hialino.	Interviene en la coagulación y encapsulación de la hemolinfa.

Fuente: (Giammarino et al., 2024)

La encapsulación comienza con la unión de células granulares que envuelven y bloquean a un posible agente no propio, y esto ocurre principalmente cuando los patógenos son demasiados grandes para la fagocitosis dando como respuesta del huésped una invasión microbiana caracterizado por el desarrollo de nódulos también llamados nodulación, desencadenando la liberación de material de múltiples péptidos que se propaga por los plasmátocitos alrededor del objetivo extraño como bacterias, esporas de hongos o dianas, lo que da como resultado una capsula lisa (Muñoz Gómez, 2015).

b) Sistema inmunológico humoral

La respuesta inmune humoral consiste en procesos en la hemolinfa, como melanización, producción de coagulo y cicatrización. La respuesta humoral esta orquestada por moléculas efectoras solubles como los péptidos antimicrobianos simples (AMP) que inmovilizan o matan al patógeno e incluye proteínas similares al complemento, melanina y péptidos antimicrobianos (Tsai et al., 2016).

La melanización es el principal mecanismo de defensa contra microorganismos, causando la deposición de melanina sobre el microbio dentro de la hemolinfa, la cual es seguida por la coagulación de la hemolinfa y la opsonización, esto con el fin de matar al patógeno. La melanización tiene comienzo en la superficie de la cutícula de la larva teniendo como resultado apariciones simples de

manchas negras, el cual se irán extendiendo gradualmente en toda la superficie cuticular volviendo a la larva completamente negra, dando a entender a una presencia de infección severa llegando a provocar la muerte de la larva. Este proceso es activado por receptores de la superficie de la larva, entre ellas se pueden reconocer a la β -1,3-glucano, lipopolisacáridos (LPS) y peptidoglicanos, la cual libera y transporta a la cutícula, especialmente al sitio dañado o al patógeno encapsulado generando la polimerización de la melanina (Giammarino et al., 2024; Muñoz Gómez, 2015).

2.8. Agente encapsulante

Existen una gran variedad de materiales encapsulantes utilizados en las industrias, como podría ser la maltodextrina, aislado de proteína de soya, aislado de proteína de lactosuero, goma arábica, gelatina, grasas, aceites, ceras, alginato de calcio, almidones, nylon, ciclodextrina (Parra Huertas, 2010). El agente encapsulante debe de cumplir ciertas propiedades, del cual dependerán de su mayoría a las características químicas del material que se pretende encapsular, su empleo, su naturaleza de almacenamiento y al proceso en que se someterá. Entre las características destacables se puede hacer mención a su baja viscosidad a concentraciones altas, baja higroscopicidad, capacidad de dispersar el material activo y estabilizar la emulsión producida, insolubilidad e incapaz de reaccionar con el componente bioactivo, además deben ser solubles en productos alimenticios y tener capacidad de proteger al componente bioactivo a ciertas condiciones ambientales (oxígeno, pH, luz, humedad e ingredientes reactivos), mantener a los compuestos bioactivos dentro de las cápsulas durante el procesamiento y almacenamiento, tener un sabor insípido, de bajo costo y que permita su completa liberación (Domínguez González, 2019).

2.9. La coacervación compleja como método de microencapsulación de compuestos bioactivos

2.9.1. Emulsión doble

La emulsificación es otra de las técnicas empleadas en la encapsulación de sustancias en la industria alimentaria. Las emulsiones son dispersiones formadas por dos fases líquidas inmiscibles, normalmente de naturaleza apolar y polar que se mezclan

mediante cizallamiento mecánico y surfactante, en el cual uno de ellos forma gotas de pequeño tamaño de entre 0.1 a 100 micras que se denomina fase dispersa o interna y fase continua o externa (Kale & Deore, 2016).

Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo con su distribución espacial de la fase dispersa o continua, obteniendo emulsiones agua/aceite (W/O), emulsiones aceite/agua (O/W) y emulsiones donde los dos tipos estén relacionados, conocidos como doble emulsión o múltiples; emulsión agua/aceite/agua (W/O/W) y emulsión aceite/agua/aceite (O/W/O) (Hernández-Torres et al., 2016). En una emulsión O/W, la fase dispersa consistirá en pequeñas gotas de un líquido de naturaleza oleosa (hidrófoba) y una fase continua dominada por un medio normalmente acuoso, tales como; leche, mayonesa, nata, etc., mientras que una emulsión W/O, la fase dispersa es de naturaleza acuosa y la continua oleosa, como ejemplo; mantequilla, margarina, etc (Figura 14). La emulsión doble o múltiple son sistemas multicompartimentalizados, esto debido a la coexistencia de emulsiones de aceite/agua y de agua/aceite donde los glóbulos de la fase dispersa contienen dentro de ellas gotas más pequeñas. En las emulsiones agua/aceite/agua (W/O/W), las partículas minúsculas de agua (W) están dispersas dentro de glóbulos de grasa (O), las cuales se encuentran a su vez dispersos en el interior de una fase continua acuosa (W), es decir un sistema constituido por tres fases, dos acuosas (una interior y otra exterior) y una lipídica localizada entre ellas y separadas entre sí por dos tipos de interfases estabilizadoras mediante surfactantes hidrofílicos y lipofílicos (Figura 15) (Francisco Jiménez-Colmenero, 2013).

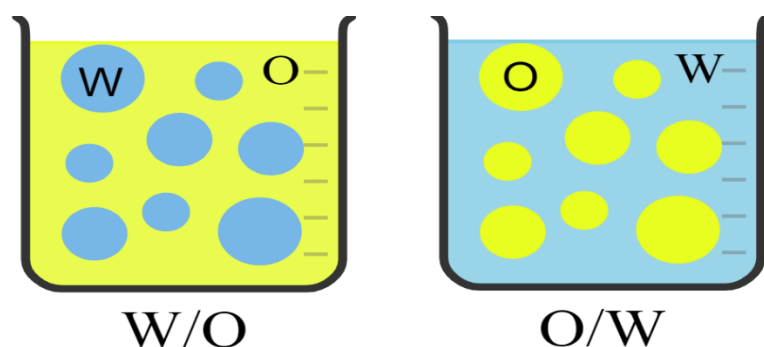


Figura 14. Emulsiones simples

Fuente: Elaboración propia

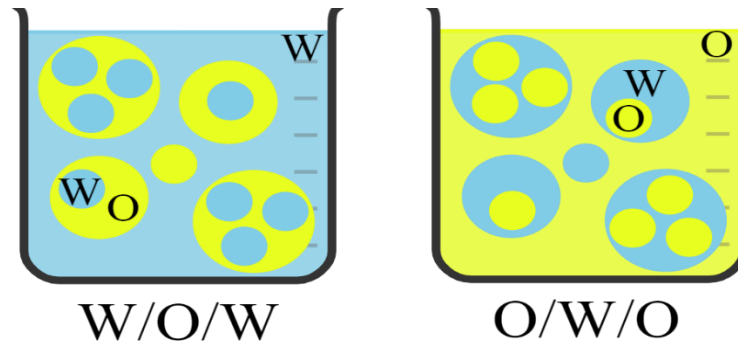


Figura 15. Emulsiones dobles o múltiples

Fuente: Elaboración propia

La emulsión doble transcurre generalmente a través de dos procesos de emulsificación. Para la primera fase se forma una emulsión de agua/aceite (W/O) mediante homogenización de una fase acuosa (W_1) y otra lipídica (O) en presencia de un emulsificador lipofílico capaz de producir la interfase (W/O), y para la segunda fase se procede la homogenización de la emulsión (W/O) con una nueva fase acuosa (W_2), y con la ayuda de un emulsificador hidrofílico (interfase O/ W_2) se obtiene la doble emulsión ($W_1/O/W_2$) (Figura 16) (Francisco Jiménez-Colmenero, 2013).

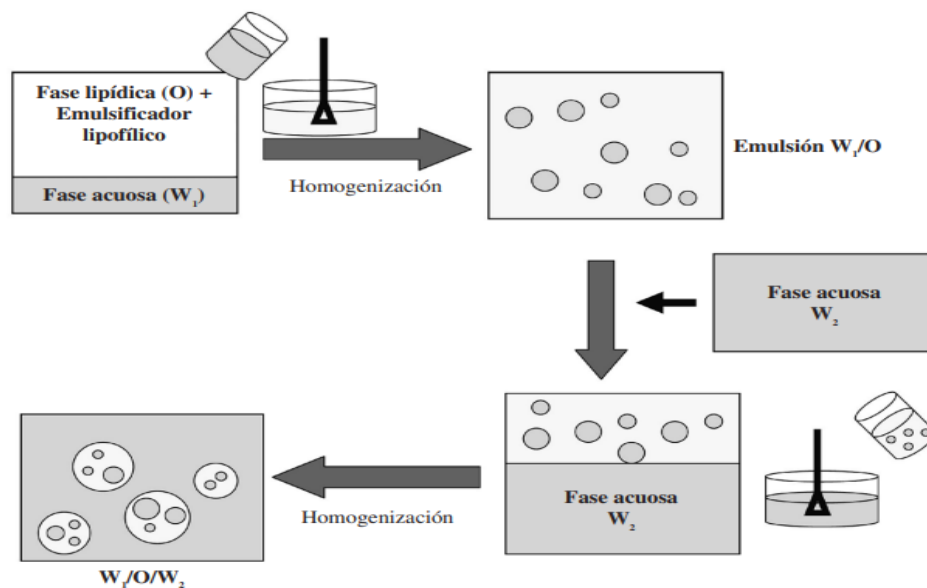


Figura 16. Formación de emulsión doble

Fuete: (Francisco Jiménez-Colmenero, 2013)

2.9.2. Coacervación compleja

El término de coacervación es usado en la química coloidal para nombrar el proceso de separación de una fase asociativa inducido por la modificación de factores como pH, fuerza iónica, temperatura y solubilidad bajo condiciones controladas. La coacervación puede ser clasificada en dos: simple y compleja, siendo en la primera el uso de un solo polímero involucrado, en donde la formación de sus coacervados es bajo el mecanismo de deshidratación o “déficit de agua”, mientras la segunda depende de la interacción iónicas entre dos o más polímeros de carga opuesta siendo generalmente proteínas y polisacáridos (Quintana Cristancho et al., 2019).

La coacervación fue observada como un fenómeno desde hace varias décadas, en donde se reportó una “cierta opacidad” y precipitación después de mezclar gelatina y goma arábiga (Ga) en una solución de ácido acético (Porrás Godínez, 2012).

Por ello, la coacervación compleja es clasificada como proceso fisicoquímico, debido a su dependencia hacia los fenómenos físicos y relaciones de polimerización para producir la pared de la cápsula. La coacervación compleja es un método que consta de 4 etapas (Figura 17), en donde empieza con la dispersión mediante agitación del compuesto a encapsular en una disolución de polímeros formador del recubrimiento, siendo seguida de la inducción a la coacervación por modificación de factores como temperatura, pH o adición de una segunda sustancia donde posteriormente se da la adsorción de coacervados alrededor de los núcleos a encapsular y por última el endurecimiento de la cobertura del coacervado mediante enfriamiento (Figura 18) (Quintana Cristancho et al., 2019). Se tiene en cuenta que factores como las propiedades del material, el peso molecular de los polímeros, su densidad de carga, la concentración de la mezcla y los parámetros del proceso como el método utilizado para producir la emulsión, el grado de homogeneización, pH, temperatura y fuerza iónica afectan el proceso de coacervación compleja en una medida considerable (Manzanarez Tenorio et al., 2020).

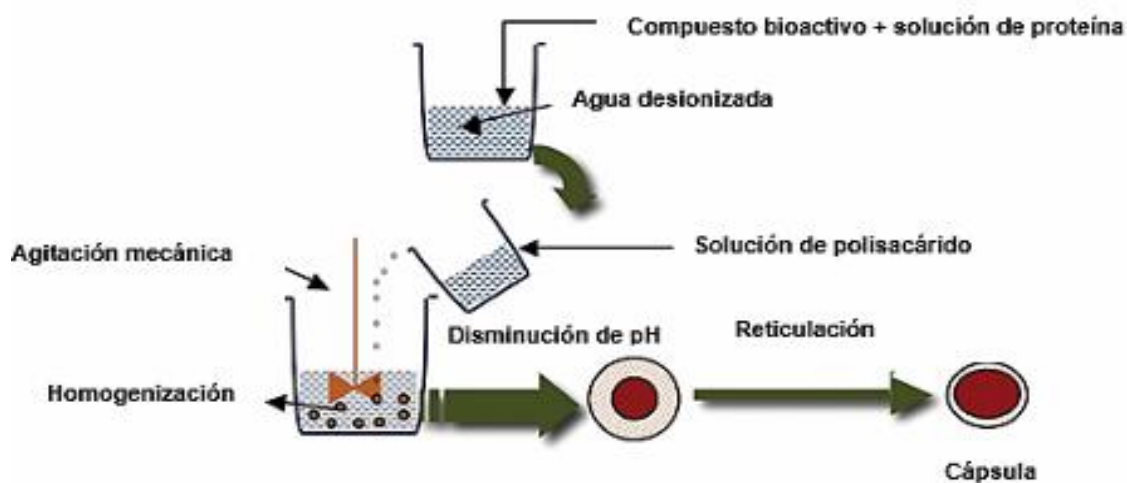


Figura 17. Técnica de coacervación compleja

Fuente: (Mosquera Vivas et al., 2024)

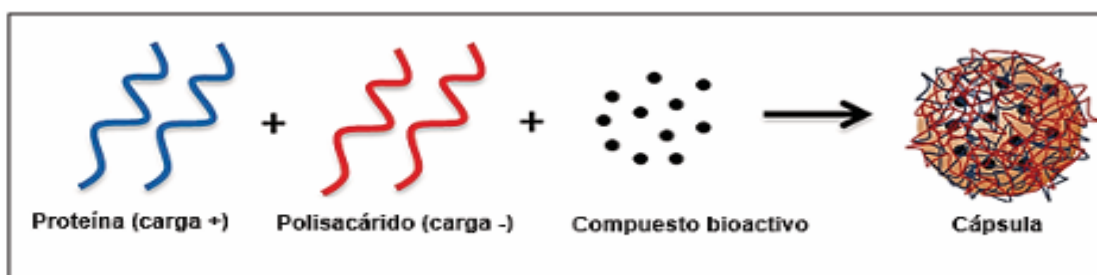


Figura 18. Cubrimiento de Microcápsulas

Fuente: (Mosquera Vivas et al., 2024)

2.9.3. Microencapsulación

La microencapsulación está definida como el proceso físico utilizada para empacar en miniatura ciertas sustancias activas permitiendo envolver cantidades pequeñas de materia (gases, líquidos o sólidos) dentro de una “pared” que funciona como escudo del ingrediente activo, del cual los protegerá de diversos factores que lleguen a causar su deterioro y controlar su liberación. Las microcápsulas tienen un tamaño entre 5 y 200 μm y en algunos casos 0.2 μm hasta varios milímetros (Hernández-Torres et al., 2016).

Las propiedades fisicoquímicas de la microencapsulación dependerán mayormente del material seleccionado para el recubrimiento, ya que estas deben ser capaces de

formar películas cohesivas con la fase del núcleo, además de presentar propiedades como fuerza, flexibilidad, permeabilidad selectiva, absorción de humedad, luz, solubilidad y estabilidad (Mohammadalinejad & Kurek, 2021).

De acuerdo con su morfología, las microcápsulas pueden clasificarse en tres categorías: mononucleares, polinucleares y tipo matriz (Figura 19), en donde las mononucleares tienen una cubierta alrededor del núcleo, las polinucleares tienen varios núcleos dentro de la pared y en la tipo matriz el material del núcleo se distribuye homogéneamente en el material y puede presentarse en diferentes estructuras: en forma espuma en donde el material activo se reparte en toda la capsula y cubierta, en forma de red con una estructura abierta y microcápsulas donde el material activo se encuentra disperso en la matriz que actúa como cubierta tanto en la esfera llena como en la matriz (Figura 20) (Nava Reyna et al., 2015).

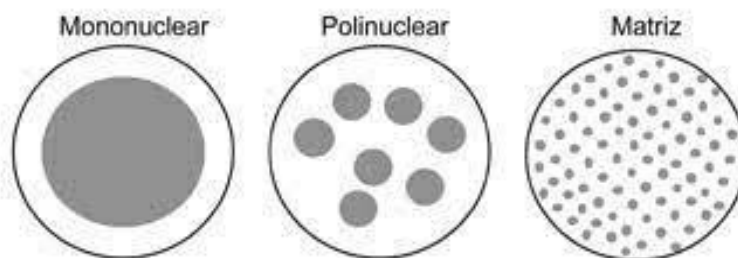


Figura 19. Tipos de microencapsulados

Fuente: (Nava Reyna et al., 2015)

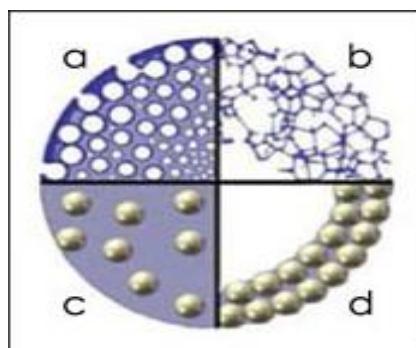


Figura 20. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas tipo matriz

Fuente: (Nava Reyna et al., 2015)

2.9.4. Métodos de secado

Liofilización: el método de secado por liofilización o llamada anteriormente como criodesecación, es un proceso de secado que se basa en la sublimación del hielo de un producto congelado, pasando directamente de estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido, para ello se debe trabajar por debajo del punto triple del agua (0.01 °C y 610 Pa) (Figura 21). El producto se congela mediante la exposición a aire muy frío, para después ser colocado en una cámara de vacío en donde la humedad se sublima y se elimina por bombeo mediante eyectores de vapores o bombas mecánicas de vacío (Cabrera Gómez, 2016).

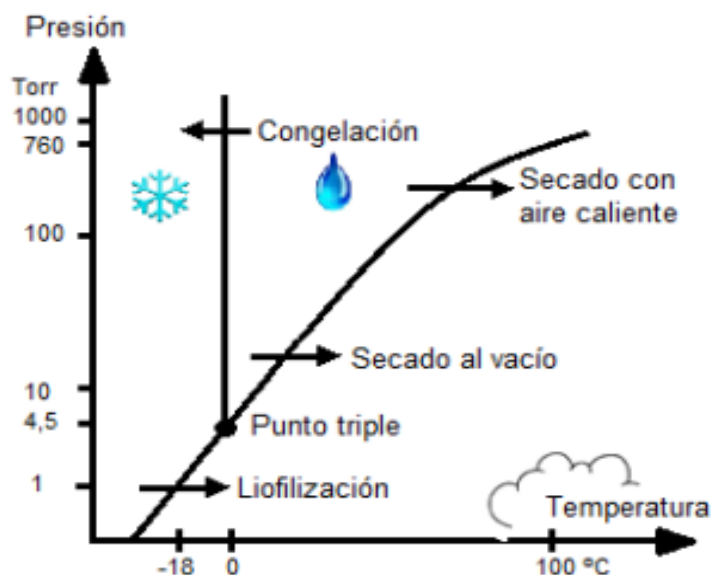


Figura 21. Fases de la liofilización

Fuente: (Talavera Urriburu, 2018)

El proceso de liofilización se desarrolla en tres etapas: congelación, secado primario (sublimación) y secado secundario (desorción). En la etapa de congelación se obtiene la separación intersticial del agua libre del soluto, realizándose la primera deshidratación, para ello se recomienda aplicar temperaturas suficientemente bajas para que la red intersticial se congele produciendo una mezcla rígida llamada eutéctica (punto eutéctico), así eliminando todo riesgo de descongelamiento prematuro. En el secado primario, la sublimación se hace presente entre la capa seca y la capa congelada de la muestra, extendiéndose gradualmente, esto da inicio por el

calentamiento de la muestra donde la sublimación crece rápidamente hasta llegar a su punto máximo en un tiempo relativo entre 10 a 15 % del tiempo total del proceso y continuamente mostrar un descenso en la velocidad de sublimación por la formación de capa porosa del material seco oponiendo una resistencia creciente al flujo de calor y al vapor a medida que procede el secado, llevándose una mayor parte de remoción de agua de la muestra entre un 75-90 %. En la última fase que es el secado secundario se realiza por evaporación del agua que no se sublima en la etapa de secado primario, la velocidad de sublimación continúa decreciendo hasta aproximarse a cero, esto debido a que el calor utilizado para retirar el agua ligada a la muestra es más alto al calor de sublimación (Figura 22) (Orrego-Alzate, 2008; Ramírez Navas, 2006).

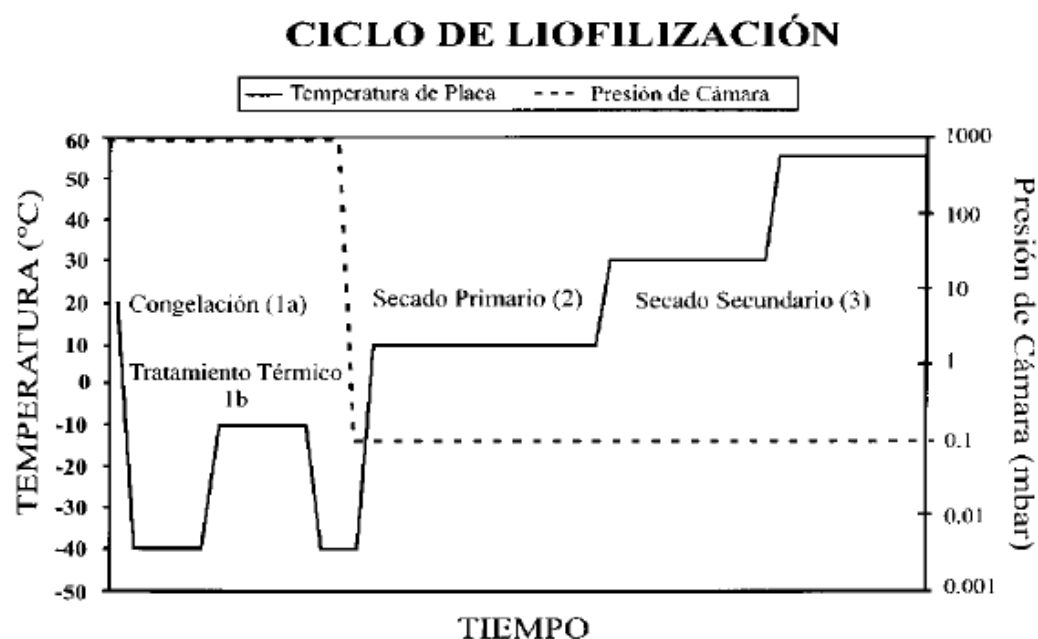


Figura 22. Ciclo de liofilización: 1ª Congelación; 2ª Secado primario; 3ª secado secundario

Fuente: (Orrego-Alzate, 2008)

Secado por aspersion: el secado por aspersion es una técnica antigua de encapsulación utilizada desde los inicios de los años 30 en donde sus primeras aplicaciones fueron enfocadas a la microencapsulación de sabores, esta técnica

consiste en atomizar una muestra líquida que va a ser secada en forma de gotas muy finas con el paso de una corriente de gas caliente que generalmente es aire o nitrógeno (ocasionalmente) para obtener un polvo instantáneamente. El proceso de secado por aspersión consta de 4 etapas: atomización, contacto de gota-aire caliente, evaporación de agua y separación del producto seco y aire húmedo (López Hernández, 2010; Rios-Aguirre & Gil-Garzón, 2021).

En la atomización se puede llevar a cabo por presión, en ella se busca crear la máxima superficie de transferencia de calor entre el aire seco y el líquido para optimizar la transferencia de masa y calor. Los atomizadores más empleados son atomizador neumático, boquilla de presión, configuraciones de discos giratorios y recientemente dos boquillas y boquilla sónica, aunque esto dependerá de la naturaleza y la viscosidad de la alimentación y las características deseadas del producto seco. En la etapa de contacto de gota-aire caliente se da lugar durante la atomización la cual da inicio a la etapa del secado, en ella el líquido es asperjado en la misma dirección de flujo de aire caliente con una entrada de temperatura de 150-220 °C, la evaporación surge instantáneamente obteniendo un polvo seco la cual será expuesto a una temperatura de salida moderada de 50-80 °C, la cual es el límite de degradación térmica, aunque la temperatura de entrada sea alta, las gotas del líquido atomizador se calienta solo hasta 40 °C debido al poco tiempo de duración del secado lo que evita la degradación del producto, ya que a pesar del aporte de aire caliente, este sustrae calor por la vaporización del disolvente. Mientras tanto ocurre el proceso a contracorriente, en el cual aquí el líquido es asperjado en dirección contraria al flujo de aire caliente, en donde el producto seco obtenido es expuesto a altas temperaturas limitando su uso a productos termosensibles. En la evaporación de agua se da el momento en la que surge el contacto de las gotas de líquido con el aire caliente estableciéndose el balance de temperatura y presión parcial de vapor entre las fases líquido y gas, es decir, la transferencia de calor se lleva a cabo del aire hacia el producto como resultado de la diferencia de temperatura mientras que la transferencia de agua se lleva a cabo en sentido opuesto debido a la diferencia de la presión de vapor. En la separación del producto seco y aire húmedo se hace a través de un ciclón que está colocado fuera de la cámara de secado, lo cual ayuda a reducir las pérdidas del producto a la atmosfera

donde las partículas de mayor densidad son recuperadas en la base de la cámara de secado, mientras que las partículas finas pasan a través del ciclón para ser separadas del aire húmedo y así obteniendo polvos hechos de partículas que se originan a partir gotas esféricas al contraerse, aunque esto dependerá de la composición y el contenido de gas de la gota en las partículas puedan optar una forma compacta o huecas (Figura 23) (Espinosa Andrews & García Márquez, 2017; Esquivel González et al., 2015; Rodríguez Hernández et al., 2021).

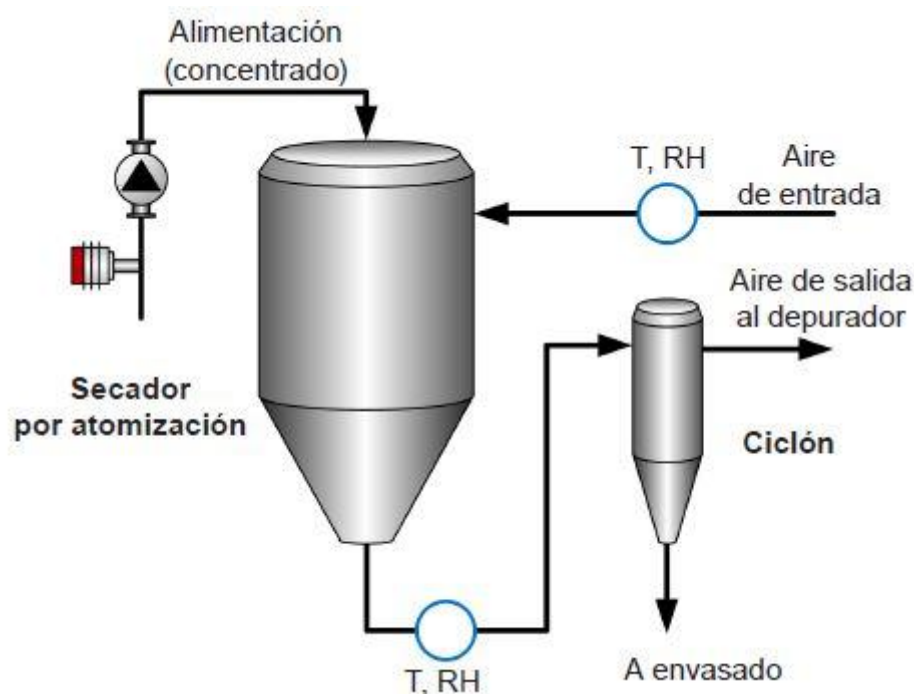


Figura 23. Proceso de secado por aspersión

Fuente: <https://seita.com.co/aplicaciones/industria-lactea/secador-por-atomizacion/>

En el método de secado por aspersión se lleva ciertos parámetros que determinan el tipo de partícula que se obtendrá, es decir, dependiendo del material inicial alimentado (viscosidad, velocidad de flujo, etc.) y las condiciones de operación como el aire de secado (temperatura, presión y flujo), contacto entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado (flujo en corrientes paralelas o contracorriente) y el tipo de atomizador, él puede obtenerse un polvo muy fino (10-50 μm) o partículas de tamaño grande (2-3 mm). Se logra considerar una microencapsulación eficiente cuando se

alcanza una máxima cantidad de material núcleo dentro de las partículas de polvo, una buena estabilidad de las microcápsulas, prevención de pérdida de compuesto volátiles y una extensión de la vida útil del producto (Esquivel González et al., 2015).

2.10. Estudio de microencapsulación por coacervación compleja

En la tabla 8 se presentan los estudios realizados por investigadores sobre la microencapsulación de diversas materias primas aplicando la técnica de coacervación compleja, así como su uso y beneficio en su aplicación a los alimentos.

Tabla 8. Estudios recientes sobre microencapsulación de compuestos bioactivos por el método de coacervación compleja

Material vegetal	Material de pared utilizado y concentración	Hallazgos más importantes	Autor
Propóleo (Resina pegajosa de las abejas)	- Gelatina (0.02 %) - Alginato de sodio (0.02 %)	Con la aplicación de 3 concentraciones de propóleo (11.21 %, 20.16 % y 27.47 %), se encontró que el incremento de la concentración de propóleos favoreció un aumento del rendimiento de microencapsulación; así como en su contenido fenólico total, higroscopicidad y solubilidad. Aunque también en el incremento de concentraciones provocó	(Sukri et al., 2023)

		una disminución en su eficiencia de encapsulado del propóleo, como en su contenido de humedad, actividad de agua y en su tiempo de disolución.	
Aceite de semilla de chía	• Aislado de proteína de semilla de chía (10 % y 12 %) • Goma de semilla de chía (2 %, 2.5 % y 5 %)	Se utilizó la proteína aislada de semilla de chía (CPI) y la goma de semilla de chía (CSG) como material de pared para la microencapsulación de aceite de semilla de chía, en el cual se obtuvo 3 resultados diferentes respectó al uso de los materiales de pared (CPI, CSG Y CPI-CSG), en donde se observó que el uso de los dos materiales combinado (CPI-CSG) se obtuvo una mejor eficiencia de encapsulación para el aceite de semilla de chía de 93.9 % que su uso individualmente. Además, el uso de los dos polímeros en conjunto (CPI-CSG) presentó una mayor estabilidad de	(Timilsena et al., 2016)

		almacenamiento al ser sometidas durante 10 d en almacenamiento a 30 °C, observando una menor oxidación de aceite de semilla de chía.	
Aceite de pescado	• Gelatina bovina (Tipo A; 260 Bloom) (1 %, 1.5 % y 2 %) • Goma arábica (1 %, 1.5 % y 2 %)	Se evaluó la eficiencia y el contenido de aceite de pescado microencapsulados utilizando gelatina bovina y goma arábica como materiales de pared a tres concentraciones diferentes (1 %, 1.5 % y 2 %) así como concentraciones de aceite de pescado (1 %, 0.5 %, y 2 %). Como resultado se observó una mayor eficiencia de encapsulación y mayor contenido del aceite encapsulado si se trabaja con una concentración de material de pared de 1.5 % y con una concentración de aceite de pescado de 2 %, obteniendo una eficiencia de encapsulación de 76.66 % y un contenido de aceite	(Habibi et al., 2017)

		de las microcápsulas de 56.78 %. Las microcápsulas de aceite de pescado obtenidas fueron liofilizadas y agregadas al jugo de granada antes de su pasteurización siendo almacenados durante 42 d a 48 °C, obteniendo un aumento de turbidez y luminosidad (L*) en el jugo, también se reveló que se libera el 14 % del aceite de pescado microencapsulada en el día 42.	
Raíz de regaliz (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	• Proteína aislada de garbanzo (1 %, 1.5 % y 2 % de CPI) • Goma Persa (0.5 %, 1 % y 1.5 % de SFPG)	Se realizó microencapsulación de raíz de regaliz utilizando como material de pared la proteína aislada de garbanzo y goma persa a distintas concentraciones (1 %, 1.5 % y 2 % de CPI) y (0.5 %, 1 % y 1.5 % de SFPG), al igual que concentraciones de raíz de regaliz (0.5 %, 1.25 % y 2 %) y diferentes niveles de	(Sarabi-Aghdam et al., 2021)

		pH (3, 4 y 5), obteniendo como resultado una mayor eficiencia de encapsulación de raíz de regaliz de 97.87 % y capacidad de carga de 11.35 % utilizando concentraciones de 2 % de CPI, 1.5 % de SFPG y 2 de raíz de regaliz con un pH de 3. Además, se demostró que la combinación de la proteína de garbanzo y goma arábica se obtuvo la microencapsulación de diferentes extractos de plantas naturales, en especial aquellas con propiedades organolépticas desagradables ya que estas minimizan a cierto punto su sabor y olor.	
Cáscara de pitahaya	• Alginato de sodio (1 %) • Maltodextrina (20 %)	La goma arábica como material de pared para la microencapsulación de la betacianina tuvo mayor eficiencia de encapsulación de un	(Bhagya Raj & Dash, 2022)

	• Goma arábica (20 %) • Goma xantana (20 %) • Gelatina (20 %)	92.265 %, mientras que los demás materiales de pared estuvieron en un rango de 80 al 90 % de eficiencia. Tras observar el comportamiento de su liberación en jugo gástrico simulado, se concretó que las microcápsulas permiten la formación de productos estables en cuanto a su contenido de compuestos funcionales.	
Antocianinas de frambuesa negra	• Gelatina (5.0 % y 7.5 %) • Goma arábica (5.0 % y 7.5 %)	Se formularon seis tratamientos de microencapsulación con diferentes concentraciones de Gelatina y Goma arábica (5.0 % y 7.5 %) y antocianinas de frambuesa negras (50 %, 75 % y 100 %) quedando de la siguiente manera: • A: 5.0 % de GE + GA y 50 % de ANCs • B: 7.5 % de GE + GA y 50 % de ANCs • C: 5.0 % de GE + GA y 75 % de ANCs	(Shaddel et al., 2018)

		• D: 7.5 % de GE + GA y 75 % de ANCs • E: 5.0 % de GE + GA y 100 % de ANCs • F: 7.5 % de GE + GA y 100 % de ANCs Las 6 formulaciones presentaron una estabilidad de ANCs del 23.66 % tras ser almacenadas durante 2 meses a 37 ± 2 °C. Sin embargo, el tratamiento F presentó mayor eficiencia en la encapsulación, ya que le confiere una alta capacidad de carga y alta retención de antocianinas de frambuesa negra, así como mayor retención de color y mayor estabilidad de almacenamiento.	
--	--	---	--

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y toxicidad usando *Galleria mellonella* de microcápsulas de antocianinas de *C. cainito* L. obtenidas mediante coacervación compleja.

3.2. Objetivos específicos

1. Obtener microcápsulas de extractos ricos en antocianinas de *C. cainito* por coacervación compleja, variando la concentración de la goma arábica y gelatina bovina.
2. Determinar la toxicidad del extracto rico en antocianinas de *C. cainito* a diferentes concentraciones utilizando la curva de supervivencia de *Galleria mellonella*.
3. Comparar diferentes tratamientos de microencapsulación variando la concentración de polímero y el volumen de la emulsión a través del color, grupos funcionales, morfología y tamaño de microcápsulas.

4. JUSTIFICACIÓN

El caimito (*C. cainito* L.) es una fruta tropical que se cultiva en diversas regiones de América Latina, incluyendo el estado de Yucatán, México. La producción y comercialización del caimito se centra principalmente al consumo local de las regiones tropicales. La pulpa de caimito es la parte comestible con sabor dulce y textura gelatinosa. La pulpa se ha utilizado para preparar jugos, postres y conservas, descartando la cáscara como residuo. El fruto de caimito tiene un alto contenido nutricional (vitaminas y minerales) y propiedades benéficas para la salud humana. Se ha demostrado que la cáscara de caimito tiene propiedades bioactivas (antioxidantes y antiinflamatorios) y un alto contenido de compuestos fenólicos (principalmente antocianinas).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides responsables de la pigmentación de muchas frutas y vegetales, impartiendo diferentes colores que abarcan desde el rojo hasta el azul. También, el pigmento es considerado como un antioxidante natural con capacidad de neutralizar radicales libres para la prevención de diversas enfermedades. Aunque su uso en la industria es extenso, presenta una desventaja como su poca estabilidad al pH, temperatura, luz, actividad de agua, oxígeno, etc. Las antocianinas tienen una biodisponibilidad en plasma del 1 % de la cantidad total consumida, el 25 % es absorbida en el estómago y en una cantidad mínima en el intestino delgado.

La técnica de coacervación compleja es utilizada en la industria de alimentos para encapsular compuestos bioactivos como la antocianina; mejorando su estabilidad, solubilidad y bioaccesibilidad. La coacervación compleja forma una matriz protectora alrededor de las antocianinas, esto permite que las antocianinas sean liberadas gradualmente en el tracto digestivo, mejorando su absorción y biodisponibilidad en comparación con las formas libres o menos protegidas. Con el objetivo de aumentar la estabilidad y mayor bioaccesibilidad de las antocianinas extraídas de subproductos, se plantea investigar el proceso de coacervación compleja como método de microencapsulación de antocianinas de la cáscara de *C. cainito*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

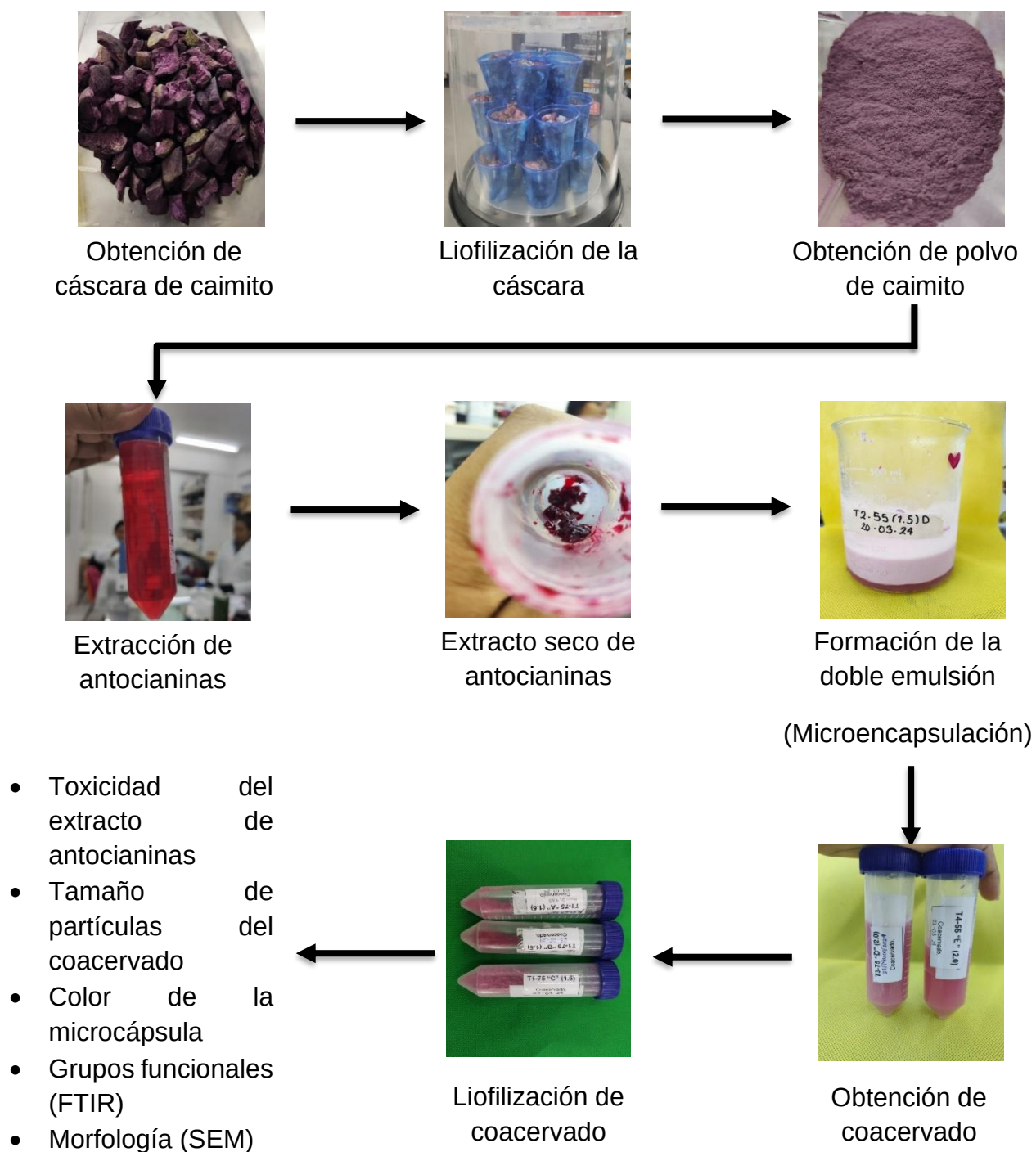


Figura 24. Estrategia general de trabajo

5.1. Obtención de cáscara liofilizado de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.)

Los frutos de caimito se compraron entre marzo y mayo de 2023 a partir de mercados locales del estado de Yucatán y Campeche. Se seleccionaron frutos que mostraron 75 % de color morado en su cáscara y sin presencia de daños físicos. Los frutos fueron lavados con agua corriente y se obtuvieron las cáscaras de forma manual utilizando un cuchillo. La cáscara se cortó en secciones pequeños y se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su liofilización. La cáscara congelada se liofilizó en una liofilizadora FreezeDryer Edwards (Modulyo EF41044) durante 3 d. Después de la liofilización, las muestras secas fueron procesadas en una licuadora nutribullet® (Magic Bullet México) y el polvo obtenido se almacenó en bolsas ziploc® hasta la extracción de antocianinas.

5.2. Extracción asistida por ultrasonidos de antocianinas

Las antocianinas se obtuvieron mediante extracción asistida por ultrasonidos (EAU) según la metodología descrita por Santos Cervera, (2023) utilizando un baño ultrasónico marca CScientific, modelo CS-UB100 con capacidad de 10 L, con control de temperatura, tiempo y amplitud ultrasónica. Las extracciones se realizaron a una frecuencia constante de 40 kHz, $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una amplitud ultrasónica de 240 W. Se pesaron 15 g de cáscara liofilizado y se colocaron en un matraz Erlenmeyer que contenía 400 mL de una solución de ácido cítrico (1.06 % en agua destilada). La mezcla se agitó magnéticamente durante 10 min y luego, se colocó en un baño de ultrasonido durante 24 min a una amplitud de 40 % y a una temperatura no mayor a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después de la extracción, la muestra se centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min y el sobrenadante resultante (extracto) se liofilizó a 0.04 mbar a -56°C durante 72 h y finalmente, el extracto seco se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.3. Toxicidad in vivo de extracto de antocianinas

El bioensayo de toxicidad del extracto de antocianinas se realizó mediante una prueba de melanización con *Galleria mellonella* (Ferreira De Miranda et al., 2023). Se preparó una solución del extracto seco (20 % p/v) (4 g de extracto seco de antocianinas en 20 mL de agua destilada) y a partir de la solución se realizaron 5 diluciones (entre 10,000 y 160,000 ppm). Las larvas adultas (10 larvas) de *G. mellonella* fueron distribuidas en seis grupos en cajas petri. Al momento del ensayo, las larvas tuvieron un peso entre

0.15 y 0.25 g. A cada larva se le inyectaron 10 μ L de extracto de antocianinas (por cada concentración), utilizando una jeringa de insulina de 0.3 mL a través de la base de la última pseudopatas izquierda como lo describe Kavanagh & Fallon, (2010). En el experimento se incluyó un grupo de control negativo (-) de 10 larvas inyectadas con 10 μ L de una solución de buffer de fosfato salino (10 mM, pH 7.2) y un grupo de control positivo con 10 larvas inyectadas con 10 μ L de metanol absoluto. Antes del ensayo, las larvas se dejaron sin alimentarse durante 12 h para excluir cualquier variabilidad debido a la alimentación y defecación de las larvas durante el período de observación. Previamente, la dermis larval se desinfectó con una solución de etanol (70 %, v/v) para eliminar las bacterias que colonizan la piel de las larvas. Finalmente, las larvas de cada concentración de antocianinas se incubaron a 37 °C, se monitorearon individualmente durante 120 h para observar la producción de pigmentación (melanización) y el tiempo de muerte. Las larvas sin movimiento en respuesta al tacto se consideraron muertas.

Se determinó el porcentaje de supervivencia en relación con la concentración del extracto de antocianinas y a partir de la gráfica se calcularon los valores de la dosis letal media (LD₅₀) para cada tratamiento utilizando SigmaPlot 14.0, expresados en μ g/larva. El peso promedio de las 10 larvas se consideró para calcular el valor LD₅₀, expresado en μ g g⁻¹.

5.4. Preparación de microcápsulas de antocianinas utilizando doble emulsión seguido por coacervación compleja

La emulsión primaria (W/O) se preparó siguiendo el procedimiento descrito por (Devi et al., 2023) con pocas modificaciones y ensayos preliminares. El aceite de soya (80 mL) se mezcló con 5 g de span 60 (emulsificante lipofílico) mediante agitación magnética a 70 °C durante 10 min. Entonces, la mezcla se dejó enfriar hasta 40 °C y se sometió a homogeneización a 14, 000 rpm durante 2 min utilizando un equipo de dispersión Ultraturrax IKA® T-18 digital. Inmediatamente, se pesaron 4 g de extracto seco de antocianinas y se aforó a 20 mL de agua destilada. A la mezcla de aceite de soya con span 60, se adicionaron los 20 mL de extracto y se mezcló en Ultraturrax a 15,400 rpm durante 2 min, y finalmente, la emulsión se dejó bajo agitación magnética durante 3 min.

Los emulsificantes hidrofílicos se mezclaron en una proporción 1:1 (1.5 y 2.0 % p/v de solución goma arábica GA y 1.5 % y 2.0 % p/v de gelatina bovina GB) mediante agitación magnética a 40 °C durante 10 min. La solución se mantuvo a 40 °C en un baño de agua con control de temperatura para uso posterior.

La emulsión W/O (55 y 75 mL) se dispersó en el emulsificante hidrofílico con agitación magnética a 40 °C durante 30 min, mientras el pH de la mezcla se ajustó a 5.5 con NaOH (1 M). Luego, la mezcla se homogeneizó en un Ultraturrax® IKA T-18 a 13, 400 rpm durante 3 min. Los tratamientos por duplicado se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Tratamientos de microencapsulación de antocianinas a distintas concentraciones de polímeros y volumen de emulsión

Tratamiento	Concentración de polímero (%)	Solución emulsión (núcleo) (mL)	Goma arábica (mL)	Gelatina bovina (mL)
T1-55	1.5	55	50	50
T2-75	1.5	75	50	50
T3-55	2.0	55	50	50
T4-75	2.0	75	50	50

Las microcápsulas coacervadas se obtuvieron por el ajuste del valor de pH de la mezcla a 3.7 y 40 °C., utilizando una solución de ácido cítrico (1 M) con agitación magnética constante. La emulsión final se enfrió gradualmente a 10 °C y luego, se almacenó a 7 °C durante 24 h para permitir la separación de fases y el equilibrio. Los sedimentos se recogieron, se almacenaron a –20 °C y se liofilizaron durante 3 d. Las microcápsulas secas se almacenaron en tubos centrífugos protegidos de la luz a –20 °C para caracterizaciones adicionales.

5.5. Métodos analíticos

5.5.1. Tamaño de partícula de coacervado

Se observó el tamaño de partícula del coacervado (sin liofilizar) utilizando un microscopio biológico binocular (Zeigen, Binoplus-N) utilizando un objetivo acromático

de 40 x. El coacervado se depositó en un portaobjeto y colocado directamente al microscopio. Previamente, el microscopio se calibró con un micrómetro de medición utilizando el programa Future Winjoe.

5.5.2. Color CIELAB

Los parámetros de color CIELAB del microencapsulado (líoofilizado) se determinaron mediante el colorímetro WR10QC. Se pesó 1 g del microencapsulado en un vial transparente y luego el visor del colorímetro fue colocado sobre la muestra registrando los valores de L^* , a^* y b^* . Con los parámetros del color, se calculó el ángulo de tono ($^{\circ}h$) y la cromaticidad (C^*) (Arteaga Dalgo et al., 2014):

$$^{\circ}hue (^{\circ}h) = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

5.5.3. FTIR

Se utilizó un equipo de espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) marca Nicolet 8700, con un rango de espectro de 4000 – 400 cm^{-1} . El análisis se realizó a 100 barridos y a una resolución de 4 cm^{-1} . Para el análisis de las microcápsulas, se empleó un microscopio inspect IR Plus provisto del accesorio para reflectancia total atenuada (ATR).

5.5.4. Morfología SEM

La morfología superficial de las microcápsulas (líoofilizados) se observó en un microscopio electrónico de barrido JEOL SEM Modelo LV 5400 operado a 15 keV. Las muestras se cubrieron previamente con oro. Previo al análisis, las microcápsulas fueron expuestas a 25 $^{\circ}\text{C}$ y se evaluaron cuando la absorción de humedad llegó a un valor de equilibrio. Las imágenes se seleccionaron con un aumento de 250 x y 1000 x como representativas de cada tratamiento.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Color CIELAB

El sistema de color CIELAB se define por tres parámetros que se representan en sistemas cartesianos: L^* , a^* y b^* . El parámetro L^* representa la luminosidad, indicando el grado de claridad (0) u oscuridad (100) de un color percibido, para el parámetro a^* los valores positivos indican tonalidades rojizas y para los valores negativos tonalidades verdosas, mientras que los valores positivos de b^* indican tonalidades amarillas y los valores negativos indican tonalidades azules (Piñeiro-Di Blasi et al., 2014).

La tabla 10 muestra los parámetros de color CIELAB de microcápsulas de antocianinas de *C. caimito* L. obtenidas con diferentes tratamientos. Se realizaron cuatro tratamientos a diferentes concentraciones de polímeros y solución núcleo, encontrando diferencias significativas en los valores de color debido a los diferentes tratamientos. Al comparar los tratamientos, el T1 (29.62 ± 0.02 , 1.98 ± 0.01 , 3.82 ± 0.02 y 29.68 ± 0.02 , respectivamente) exhibió el mayor valor de color a^* , b^* , $^{\circ}\text{hue}$ y C^* , no obstante, el T4 (26.13 ± 0.87 , -0.85 ± 0.03 , -1.85 ± 0.09 y 26.14 ± 0.87 , respectivamente) resultó con los menores valores de color. Los tratamientos T2 (27.56 ± 0.03 y 27.60 ± 0.03 , respectivamente) y T3 (27.65 ± 0.05 y 27.67 ± 0.05 , respectivamente) mostraron valores similares de color a^* y C^* . La cromaticidad (C^*) proporciona un atributo cuantitativo del color, determinando el grado de diferencia de un tono en comparación con un gris de la misma luminosidad; valores más altos de C^* indican mayor intensidad de color en la muestra (Granato & Masson, 2010; López & Di Sarli, 2016). En el parámetro L^* (luminosidad), el tratamiento T4 obtuvo el valor más alto de 63.86 ± 0.37 en comparación a los otros tratamientos (T1= 54.64 ± 0.16 , T2= 56.10 ± 5.43 y T3= 55.45 ± 0.01), lo que indica un notable grado de claridad del color.

El ángulo de tono ($^{\circ}\text{hue}^*$) otorga el atributo cualitativo del color, la cual es utilizada para definir la diferencia de un color en relación con un gris de igual luminosidad; un ángulo de tono más alto representa un mayor carácter amarillento y menor intensidad de enrojecimiento (rojo: 0° , amarillo: 90° , verde: 180° o azul: 270°) (Granato & Masson,

2010; López & Di Sarli, 2016). En cuanto al valor de °hue el T3 (2.23 ± 0.04) y T4 (-1.85 ± 0.09) registraron los valores más bajos en comparación del T1 (3.82 ± 0.02) y T2 (3.28 ± 0.05). Ku Canul, (2021) realizó un análisis de color en la cáscara de *Chrysophyllum cainito* L., obteniendo los valores de L* (25.85 ± 0.43), a* (1.9 ± 0.49), b* (-1.5 ± 0.04), °hue (321.16 ± 8.19) y C* (2.44 ± 0.35), determinando que los cuatro tratamientos presentaron un color rojo más claro en comparación al color púrpura de la cáscara liofilizada.

Tabla 10. Parámetros de color instrumental de las microcápsulas de antocianinas extraídas de cáscara de *C. cainito*

Tratamiento	L*	a*	b*	Ángulo de tono (°hue)	C*
T1	54.64 ± 0.16^a	29.62 ± 0.02^c	1.98 ± 0.01^d	3.82 ± 0.02^d	29.68 ± 0.02^c
T2	56.10 ± 5.43^a	27.56 ± 0.03^b	1.58 ± 0.02^c	3.28 ± 0.05^c	27.60 ± 0.03^b
T3	55.45 ± 0.01^a	27.65 ± 0.05^b	1.08 ± 0.02^b	2.23 ± 0.04^b	27.67 ± 0.05^b
T4	63.86 ± 0.37^b	26.13 ± 0.87^a	-0.85 ± 0.03^a	-1.85 ± 0.09^a	26.14 ± 0.87^a

6.2. Morfología SEM

La morfología de las microcápsulas de antocianinas, previo a la liofilización (MPL) y liofilizadas (ML), obtenidas a través del proceso de coacervación compleja, se aprecian en la Figura 25. La Figura 25 A muestra las imágenes de las microcápsulas MPL de antocianinas extraídas de la cáscara, obtenidas de cuatro tratamientos diferentes. Para todos los tratamientos se encontraron microcápsulas predominantemente esféricas con superficies lisas, algunas de tipo mononuclear y otros de tipo polinuclear. Además, se obtuvieron microcápsulas de diferentes tamaños, pero principalmente se encontraron las de menor tamaño. También Shaddel et al., (2018) encontraron que las microcápsulas multinucleadas de antocianinas de frambuesa tenían estructura esférica con superficie lisa y con alta variación en el tamaño. Habibi et al., (2017), reportaron que las microcápsulas tenían forma redonda con variación tamaños tras la encapsulación de aceite de pescado utilizando GA (Goma Arábica) y GB (Gelatina

Bovina) como materiales de pared a concentraciones de 1 % (v/v), 1.5 % (v/v) y 2 % (v/v) de polímeros y relación agente encapsulante/solución núcleo de 0.5, 1.0 y 2.0.

Por su parte Nori et al., (2011) realizaron microencapsulación de extracto de propóleo utilizando como material de pared proteína de soya aislada y pectina, en ella emplearon concentraciones de 2.5 y 5.0 g/100 mL con respecto a los polímeros y solución núcleo, obteniendo microcápsulas de tamaños irregulares y en su mayoría redondas.

La Figura 25 B y C muestran microfotografías SEM de microcápsulas ML de antocianinas. Los cuatro tratamientos presentaron forma vítrea irregular con superficie porosa, esto debido a la sublimación del hielo durante la liofilización, además de presentar alta variabilidad de tamaños. Estupiñan-Amaya et al., (2020) reportaron la misma forma vítrea irregular en la liofilización de polvo de arándanos, morfología típica de la liofilización.

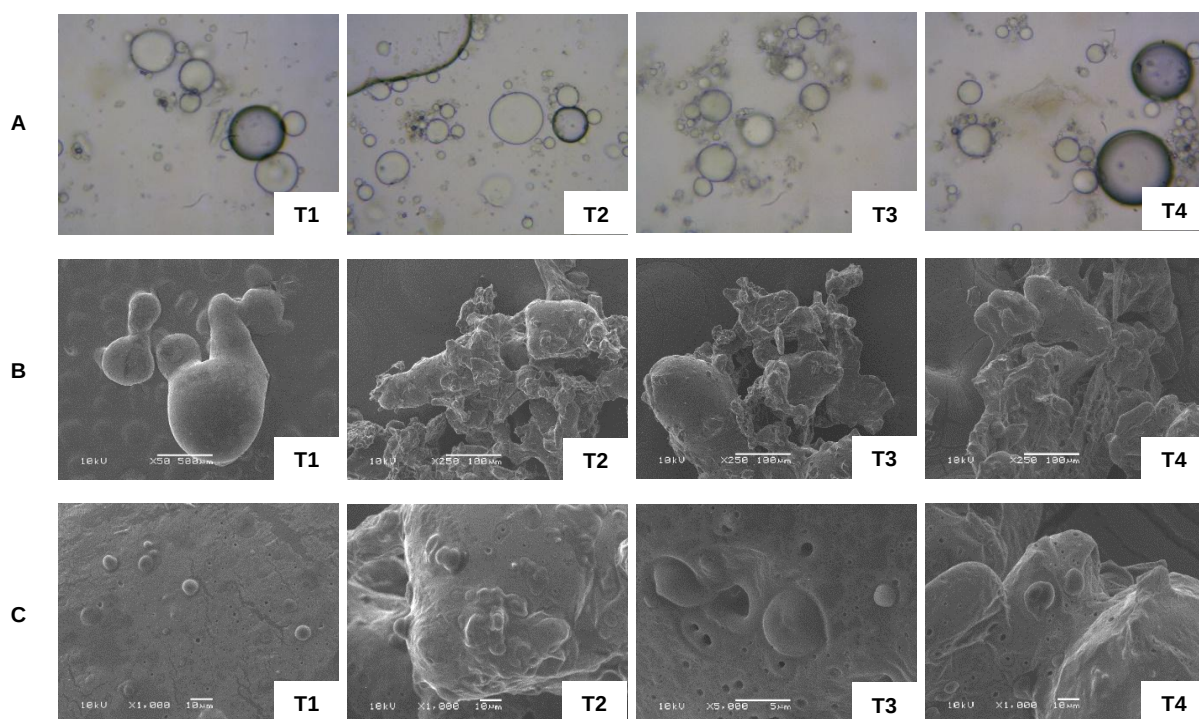


Figura 25. Microfotografías de las microcápsulas coacervados de antocianinas de *C. cainito*. **A)** Microcápsulas coacervados (sin liofilizar) visto desde un microscopio biológico binocular (40 X). **B)** Microcápsulas coacervadas liofilizadas (aumento 250 X) y **C)** Microcápsulas coacervadas liofilizadas (aumento 1000 X). T1= 1.5 % polímeros y

55 mL solución núcleo; T2= 1.5 % polímeros y 75 mL solución núcleo; T3= 2.0 % polímeros y 55 mL solución núcleo y T4= 2.0 % polímeros y 55 mL solución núcleo.

La estructura, el tamaño y el tipo de microcápsula que se puede obtener dependerá de ciertos factores en la microencapsulación, como el pH, la fuerza iónica, la velocidad de agitación y velocidad de enfriamiento, así como el tipo de material de pared y núcleo empleado, sobre todo la interacción de la concentración y proporción de núcleo/pared (Klassen & Nickerson, 2012; Mohammadalinejad & Kurek, 2021; Nakagawa et al., 2004).

6.3. Diámetro de coacervado en solución

La determinación del diámetro promedio del coacervado es un factor importante para su aplicación en los alimentos, por ello se debe disponer de un diámetro característico, para obtener una buena protección al principio activo como para una buena distribución y liberación del componente activo, siendo incorporadas en formulaciones de alimentos para mejorar la biodisponibilidad durante la digestión gastrointestinal (González et al., 2015). La Figura 26 muestra los diferentes tipos de tamaños de coacervado de antocianinas alcanzados tras el proceso de coacervación compleja. El tamaño de los coacervados obtenidos de los tratamientos de microencapsulación se categorizó de la siguiente manera: tipo 1 ($\leq 33 \mu\text{m}$), tipo 2 ($34\text{-}66 \mu\text{m}$) y tipo 3 ($67\text{-}100 \mu\text{m}$). Al comparar las categorías de tamaño de coacervados, se encontró una mayor proporción de coacervados del tipo 1, seguido de tipo 2 y 3.

El T4 (67 %) exhibió un mayor porcentaje de coacervado dentro de la categoría tipo 1 en comparación de los otros tratamientos (T1: 47.5 %, T2: 51.25 % y T3: 47 %). Al comparar los tratamientos para el tipo 2, el T1, T2 y T3 presentaron un mayor porcentaje de coacervado ($\sim 38 \%$), mientras que el tratamiento 4 presentó el menor porcentaje del 22 %. En el caso del tipo 3, los tratamientos 1 y 3 exhibieron porcentajes superiores (14 y 15 %, respectivamente) de partículas de coacervado en comparación a los demás tratamientos ($\sim 10 \%$), respectivamente. Entonces, de todas las categorías, el tamaño tipo 1 resultó el más predominante para todos los tratamientos, siendo el T4 (2 % de polímeros y 75 mL de emulsión) el de mayor porcentaje de partículas con menor tamaño tipo 1 (67 %, $\leq 33 \mu\text{m}$).

Se asume que la mayor proporción de coacervados tipo 1 en T4 se debe al aumento de concentraciones de los polímeros de gelatina bovina y goma arábica, al igual que el aumento del volumen de la solución núcleo. Shaddel et al., (2018) demostró que el incremento de las concentraciones de los polímeros de gelatina bovina y goma arábica de 5,0 % ($80.22 \pm 5.21 \mu\text{m}$) v/v hasta 7,5 % ($35.34 \pm 3.21 \mu\text{m}$) v/v se obtiene una disminución de diámetros de coacervados de antocianina de frambuesa negra. Asimismo, Marfil et al., (2018) y Rocha-Selmi et al., (2013) también observaron una disminución de los diámetros de los coacervados de aceite de palma y edulcorante sucralosa al aumentar las concentraciones de los polímeros de gelatina bovina y goma arábica de 2.5 % ($689.1 \pm 69.8 \mu\text{m}$) hasta 7.5 % ($97.1 \pm 5.5 \mu\text{m}$) y 2.5 % ($113.49 \pm 0.02 \mu\text{m}$) hasta 7.5 % ($83.92 \pm 0.08 \mu\text{m}$), respectivamente, cuyos valores son superiores en comparación a lo obtenido en este trabajo.

Como se cita en diferentes literaturas, el tamaño de las microcápsulas puede variar por diversos factores como: cambios de pH, fuerza iónica, velocidad de agitación, tipo de método aplicado, proceso de secado y sobre todo el tipo, concentración y proporción de núcleo/pared (Klassen & Nickerson, 2012; Mohammadalinejhad & Kurek, 2021; Sandoval-Peraza et al., 2016). En diversos estudios de microencapsulación, la aplicación del método de coacervación compleja da lugar a la formación de microcápsulas de distintos tamaños que oscilan entre 1 y 500 μm (Favaro Trindade et al., 2008).

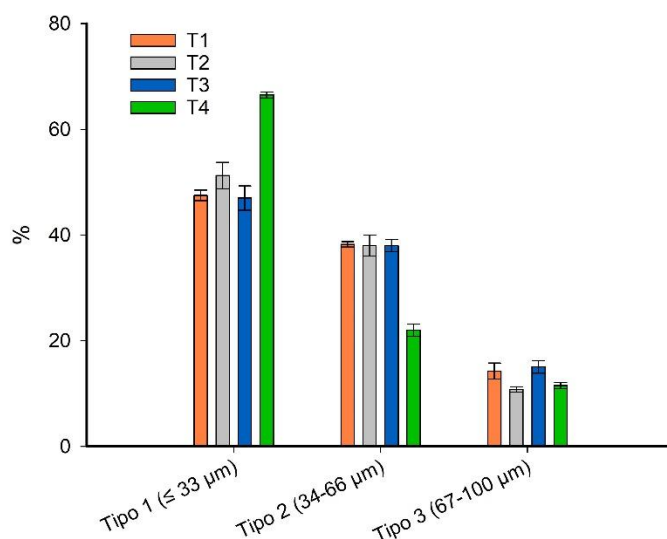


Figura 26. Distribución de tamaño de los coacervados de antocianinas de la cáscara de caimito

6.4. Toxicidad

La Figura 27 muestra la curva de supervivencia de las larvas *G. mellonella* expuestas a diferentes concentraciones de antocianinas de caimito (entre 0.56 mg/g y 8.53 mg/g) en un periodo de incubación de 96 h (4 días). A partir de la curva se determinó el valor de DL50 (mg de extracto seco/g larva) de extractos de antocianinas.

Se encontró que a mayor concentración de extracto seco de antocianina resultó en una disminución del porcentaje de supervivencia de larvas *G. mellonella*. Las larvas tratadas con 0.56 mg/g (10,000 ppm) y 2.21 mg/g (40,000 ppm) de extracto seco se mantuvieron vivas durante las 96 h de incubación, sin presentar cambios físicos (coloración oscura). Cuando se inyectaron concentraciones de extracto de antocianina entre 4.18 mg/g (80,000 ppm) y 7.47 mg/g (160,000 ppm) se reportaron una importante disminución del porcentaje de supervivencia, cuyos valores variaron entre 83 % y 64 %, reportando cierto grado de toxicidad al observar cambios físicos en las larvas, como la aparición de machas oscuras en ciertas regiones del cuerpo y muerte de 1 a 3 larvas de 10 larvas sometidos a las dosis del extracto. En cambio, se

observó un aumento de toxicidad para las larvas tratadas con 8.53 mg/g (200,000 ppm) de extracto de antocianina, presentaron una disminución de supervivencia del 50 %, observando la muerte de la mitad de las larvas inyectadas (5 larvas muertas). La DL50 se calculó utilizando el modelo de decaimiento exponencial simple de dos parámetros, determinando que a 11.28 mg/g de extractos de antocianinas seco se tiene una disminución del 50 % de supervivencia de *G. mellonella*.

En otro estudio realizado por Caroline Paz Gonçalves et al., (2024), los autores emplearon extracto de antocianinas de flores de *Clitoria ternatea* para un ensayo de toxicidad *in vivo* de *G. mellonella*, en donde se evaluaron concentraciones de extracto liofilizado entre 0.4 y 5.8 g por kg de peso corporal y encontraron que el valor LD50 se encontró a partir de concentraciones de 5.08 g de extracto/kg de peso corporal. Asimismo, Suresh & Vellapandian, (2024) realizaron un ensayo de toxicidad oral de cianidina extraída de las brácteas del plátano *Musa acuminata* Colla en ratas Sprague-Dawley e informaron que a una dosis oral de 300 mg/kg de peso corporal no mostró mortalidad ni anomalías en las ratas.

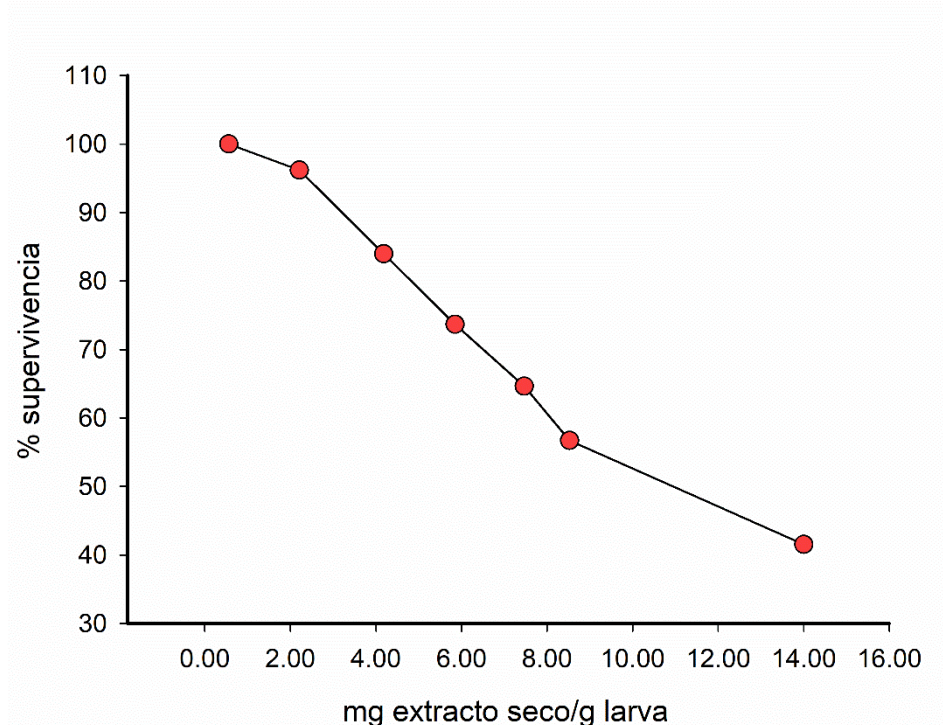


Figura 27. Curva de supervivencia de larvas *G. mellonella* en función de mg de extracto seco/g de larva

La figura 28 muestra la supervivencia de las larvas *G. mellonella* inyectadas con extractos de antocianinas a distintas concentraciones (entre 10,000 ppm y 200,000 ppm) con respecto al tiempo (4 d). Se encontró que, al transcurrir el tiempo, las larvas presentaron cambios de tonalidad (de color blanco a oscuro), presentando manchas oscuras en gran parte del cuerpo e incluso la muerte, esto siendo visible a partir de 24 h, en particular a una concentración de 200,000 ppm. El grupo de larvas tratadas con las concentraciones de 10,000ppm y 40,000 ppm se mantuvieron vivas durante los 4 d de incubación, sin presentar algún cambio físico. Para el grupo de larvas tratadas con la concentración de 80,000 ppm, se mantuvieron vivas hasta el segundo día de incubación, presentando una disminución en la supervivencia del 90 % en el día 3 y 4, observando la muerte de una larva en ambos tiempos de incubación. Para la concentración de 120,000 ppm se observó la disminución de supervivencia del 100 % al 70 % entre el día 1 y 4. En el grupo de larvas inyectadas con la concentración 160,000 ppm presentaron una disminución de supervivencia desde el día 1 y 2 con un 90 %, y para los días 3 y 4 una disminución del 80 % y 70 %, respectivamente. Para ambas concentraciones de 120,000 ppm y 160,000 ppm se observó al final de la incubación la muerte de 3 larvas de las 10 inyectadas, mientras las sobrevivientes presentaron cambios físicos (inmovilidad y tonalidades oscuras). En otro resultado, al inyectar 200,000 ppm, las larvas murieron rápidamente entre 1 y 2 d, y luego, se mantuvieron vivas un 50 % hasta finalizar el período de incubación.

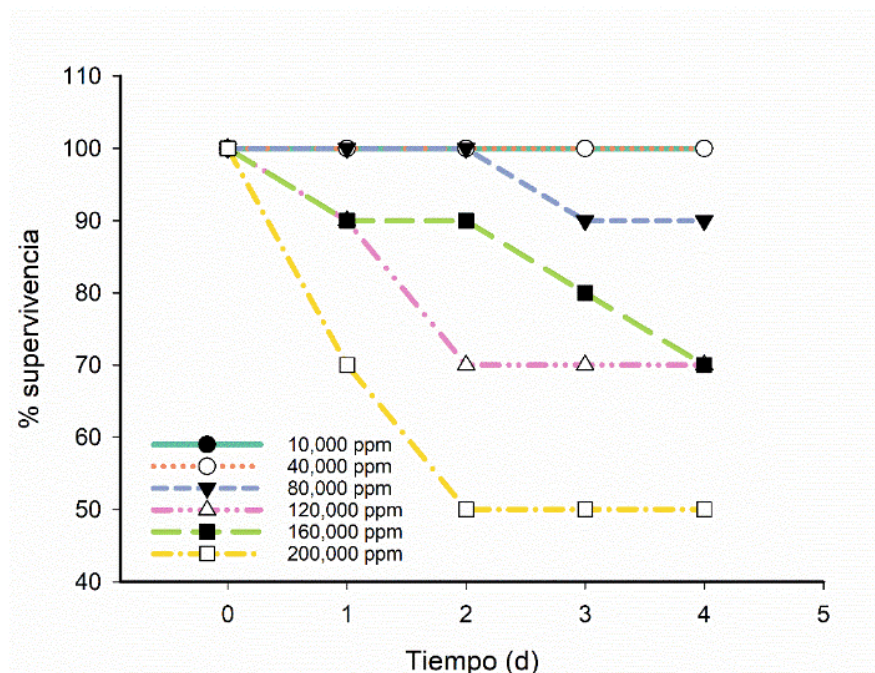


Figura 28. Curva de supervivencia por tiempo

El uso de larvas de *G. mellonella* como modelo de estudio, proporciona un medio rápido y conveniente para evaluar la toxicidad *in vivo*, obteniendo resultados que muestran una fuerte correlación con los modelos celulares como mamífero y marino. Algunos autores describen que el modelo *G. mellonella* puede incluso proporcionar resultados más precisos con respecto a los compuestos con bajos niveles de toxicidad que las líneas celulares (Serrano et al., 2023).

6.5. Espectroscopía infrarroja por transformas de Fourier (FTIR)

La Figura 29 se muestra los espectros infrarrojos (FTIR) de las microcápsulas de antocianinas de *C. caimito* L. de cuatro tratamientos formulados (T1, T2, T3 y T4), además de la incorporación de los espectros de los materiales de pared (Gelatina bóvida y goma arábica), con la finalidad de identificar los grupos funcionales presentes en los polímeros e identificar sus presencias en los tratamientos. Los espectros infrarrojos de los tratamientos presentaron las mismas ondas de transmitancia, mismas ondas encontradas en los polímeros de GB y GA.

En el espectro FTIR de GE se encontraron picos en regiones de ondas de 3281 cm⁻¹, 1626 cm⁻¹, 1520 cm⁻¹ y 1069 cm⁻¹, la cual se tiene la presencia de los grupos funcionales de Amida A, Amida I, Amida II y Amida III, respectivamente. Hashim et al., (2010) y Pradini et al., (2018), mencionan que la aparición de estos grupos funcionales puede ser encontradas en regiones de ondas de 3500-3200 cm⁻¹, 1656-1644 cm⁻¹, 1560-1335 cm⁻¹ y 1240-670 cm⁻¹, respectivamente. El espectro FTIR de la goma arábica mostro picos en las regiones de ondas de 3315 cm⁻¹, 2927 cm⁻¹, 1601 cm⁻¹, 1413 cm⁻¹, 1139 cm⁻¹ y 1012 cm⁻¹, la cual puede tener presencia de grupos funcionales de OH, C-H, COOH, COOH (ácido urónico), flexión NH y C–O–C (Al Kiey et al., 2022). Los tratamientos mostraron las mismas regiones de ondas entre 3311-3302 cm⁻¹, 2930-2923 cm⁻¹, 1715-1708 cm⁻¹, 1585-1551 cm⁻¹, 1220-1209 cm⁻¹ y 1026-1021 cm⁻¹. Los picos encontrados entre 3311 y 3302 cm⁻¹ en los coacervados son característico de los grupos amino que aparecen en la gelatina y goma arábica, es decir, el estiramiento del enlace de NH y OH libre. Los picos encontrados con baja intensidad aproximadamente entre 2930 y 2923 cm⁻¹ de los coacervados se debe a la presencia del estiramiento de C-H, característico de la goma arábica. Los picos entre 1715 y 1708 cm⁻¹ observados en los coacervados se atribuyeron a la presencia del estiramiento del grupo carbonílico C=O y vibración del estiramiento del enlace C-N, la cual es denominada Amida I. Las ondas entre 1585 y 1551 cm⁻¹ mostraron la apariencia de flexión C-H. Los coacervados también mostraron ondas de vibración de los grupos CN y NH de la amida unida entre 1220 y 1209 cm⁻¹. Las ondas a 1026-1021 cm⁻¹ se relacionan con las vibraciones C–O–C de la goma arábica. La única diferencia observada en los espectros FTIR de las microcápsulas son la intensidad de las ondas; relacionada con la interacción de concentración de GB y GA con volumen de emulsión.

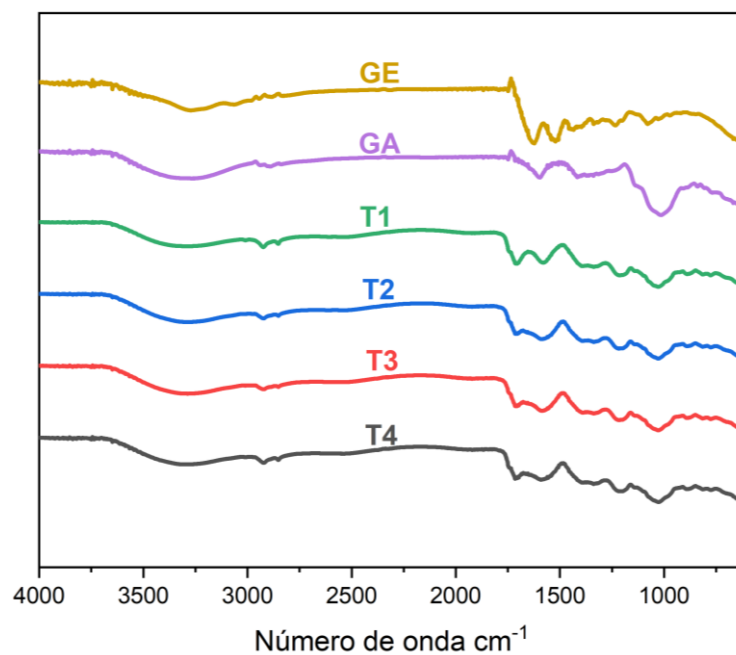


Figura 29. Espectros FTIR de gelatina bovina (GE), goma arábica (GA) y microcápsulas de antocianina de *C. cainito* (T1, T2, T3 y T4).

7. CONCLUSIÓN

La utilización de la técnica de doble emulsión seguido de coacervación complejo proporcionó microcápsulas con éxito.

Se obtuvieron las microcápsulas de extractos ricos en antocianinas de *C. cainito* utilizando concentraciones de 1.5 % y 2.0 % de GA y GB en proporción 1 GA:1 GB, v/v. Después de 96 h de inyectar el extracto de antocianinas a las larvas, se encontró un valor de DL50= 11.28 mg extracto seco/g larva. Se encontró que la variación de la concentración de polímero y el volumen de emulsión influyeron en los resultados de las propiedades físico-químicas de las microcápsulas. Los valores de color a^* , b^* , $^{\circ}$ hue y C^* resultaron altos cuando el proceso de microencapsulación se realizó con una concentración de 1.5 % de GA y GB. Las microcápsulas MPL de los cuatros tratamientos presentaron predominantemente formas esféricas con superficie lisa de tipo mononucleares y polinuclear, mientras que las microcápsulas ML tuvieron forma vítrea irregular con superficie porosa. Los diámetros de las microcápsulas (de todos los tratamientos) mostraron alta variación, siendo el tratamiento con 2.0 % de polímeros y 75 mL de emulsión, el que obtuvo mayor predominancia de diámetros igual a $\leq 33 \mu\text{m}$.

Con los resultados obtenidos se confirma que es importante considerar el porcentaje de polímeros y el volumen de emulsión en la coacervación compleja para obtener microcápsulas de antocianinas con menor tamaño de su diámetro.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera Ortiz, M., Reza Vargas, M. del C., Chew Medinaveitia, R. G., & Meza Velázquez, J. A. (2011). Propiedades Funcionales de las Antocininas. *Biotecnia*, 13(2), 16-22.
- Al Kiey, S. A., Hasanin, M. S., & Heakal, F. E.-T. (2022). Green and sustainable chitosan–gum Arabic nanocomposites as efficient anticorrosive coatings for mild steel in saline media. *Scientific Reports*, 12(1), 13209. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17386-7>
- Aloys, H., Korma, S. A., Alice, T. M., Chantal, N., Ali, A. H., Abed, S. M., & Ildephonse, I. (2016). Microencapsulation by Complex Coacervation: Methods, Techniques, Benefits, and Applications—A Review. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*, 3(6), 188-192.
- Álvarez Parrilla, E., González Aguilar, G. A., De la Rosa, L. A., & Ayala Zavala, J. F. (2012). *Antioxidantes. En alimentos y salud* (1.^a ed., Vol. 36).
- Alvarez, R., Briceño, J., Graterol, C., Quintero, I., Zambrano, J., Materano, W., & Maffei, M. (2004). Evaluación de algunos métodos y prácticas de propagación en la especie caimito *Chrysophyllum cainito* L. II Asexual. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 1(21), 54-59.
- Antonio Gómez, M. V. (2015). *ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS MICROENCAPSULADAS DE Ardisia compressa K. EN UNA BEBIDA ISOTÓNICA* [Tesis].
- Arizaleta, M., Bolívar, A., Pérez, M., Díaz, L., & Pares, J. (2014). Características físico-químicas y proporción de los componentes de la biomasa del fruto del caimito. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 1, 12-22.
- Arteaga Dalgo, M., Andrade Cuví, M. J., & Moreno Guerrero, C. (2014). *Relación del desarrollo del color con el contenido de antocianinas y clorofila en diferentes grados de madurez de mortiño (Vaccinium floribundum)*. 5(2), 14-28.

-
-
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, 494. <https://doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010>
- Bhagya Raj, G. V. S., & Dash, K. K. (2022). Microencapsulation of betacyanin from dragon fruit peel by complex coacervation: Physicochemical characteristics, thermal stability, and release profile of microcapsules. *Food Bioscience*, 49, 101882. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101882>
- Cabrera Gómez, A. (2016). *IDENTIFICACIÓN DE LAS ETAPAS DE SECADO DURANTE EL PROCESO DE LIOFILIZACIÓN* [Tesis, UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA]. <https://m.riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/69224/CABRERA%20-%20Identificaci%C3%B3n%20de%20las%20etapas%20de%20secado%20durante%20el%20proceso%20de%20liofilizaci%C3%B3n.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Caroline Paz Gonçalves, G., Lizandra Gomes Rosas, A., Carneiro De Sousa, R., Regina Rodrigues Vieira, T., César De Albuquerque Sousa, T., Ramires, T., Ferreira Ferreira Da Silveira, T., Barros, L., Padilha Da Silva, W., Renato Guerra Dias, Á., Da Rosa Zavareze, E., & Dillenburg Meinhart, A. (2024). A green method for anthocyanin extraction from *Clitoria ternatea* flowers cultivated in southern Brazil: Characterization, in vivo toxicity, and biological activity. *Food Chemistry*, 435, 137575. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137575>
- Carranza Zúñiga, J. T. (2020). *Caracterización Morfológica y Físico Químico del Caimito (Chrysophyllum cainito L.), en la Estación Experimental Litoral Sur del INIAP*. [Tesis]. Universidad de Guayaquil.
- Castañeda Vázquez, B. I. (2010). *Inducción de antocianinas y capacidad antioxidante por oligogalacturónidos en uvas de mesa cv. 'Flame Seedless'* [Tesis]. CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A. C.
- Chávez Miranda, A. M. (2014). *EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS ACILADAS OBTENIDAS DEL CAMOTE MORADO, EL RÁBANO Y*

LA CAMPANILLA ROJA [Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México].
<http://132.248.9.195/ptd2014/febrero/0708295/0708295.pdf>

CICY. (2010). *Flora de la Península de Yucatán*.

De la Rosa Reyna, X. F., García León, I., Hernández Mendoza, J., Morales Baquera, J., & Quiroz Velásquez, J. (2022). Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Revista Boliviana de Química*, 39(5), 155-163.

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>

Dios López, A., Montalvo González, E., Andrade González, I., & Gómez Leyva, J. F. (2011). INDUCCIÓN DE ANTOCIANINAS Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN CULTIVOS CELULARES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) in vitro. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(2), 77-87.

Domínguez González, K. del C. (2019). “MICROENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE *Crotalaria longirostrata*”. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0103s00>

Espinosa Andrews, H., & García Márquez, E. (2017). *TECNOLOGÍAS DE NANO/MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS* (1.^a ed.). <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/565/1/Tecnologia%20de%20nanomicroencapsulacion%20de%20compuestos%20bioactivos.pdf>

Esquivel González, B. E., Ochoa Martínez, L. A., & Rutiaga Quiñones, O. M. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 180-192.

-
-
- Estupiñan-Amaya, M., Fuenmayor, C. A., & López-Córdoba, A. (2020). New Freeze-Dried Andean Blueberry Juice Powders for Potential Application as Functional Food Ingredients: Effect of Maltodextrin on Bioactive and Morphological Features. *Molecules*, 25(23), 5635. <https://doi.org/10.3390/molecules25235635>
- Favaro Trindade, C. S., Pinho, S. C., & Rocha, G. A. (2008). Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2), 103-112.
- Ferreira De Miranda, J., Martins Pereira Belo, G., Silva De Lima, L., Alencar Silva, K., Matsue Uekane, T., Gonçalves Martins Gonzalez, A., Naciuk Castelo Branco, V., Souza Pitanguí, N., Freitas Fernandes, F., & Ribeiro Lima, A. (2023). Arabic coffee infusion based kombucha: Characterization and biological activity during fermentation, and in vivo toxicity. *Food Chemistry*, 412, 135556. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135556>
- Francisco Jiménez-Colmenero, -. (2013). EMULSIONES MÚLTIPLES; COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ALIMENTOS FUNCIONALES. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 5, 1413-1421. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.5.6673>
- Gámez Villazana, J. (2020). AVANCES EN LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN ALIMENTOS. *Revista de Ciencia y Tecnología AGROLLANÍA*, 19, 7-17.
- García Orozco, S. (1998). *PROSPECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR IN SITU DE Manilkara zapota L. y Chrysophyllum cainito L. EN NICARAGUA* [Tesis, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/1705/1/tnf01g216.pdf>
- Garzón, G. A. (2008). *LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN*. 13(3), 27-36.
- Gazel Filho, A. B. (1995). *CARACTERIZACIÓN SISTEMÁTICA DE LA COLECCIÓN DE SAPOTACEAS (Pouteria sapota (Jacq.) H. E. Moore & Stearn; Manilkara zapota (L.) P. van Royen y Chrysophyllum cainito L.) DEL CATIE* [Tesis, Centro Agronomico Tropical de Investigación y Enseñanza].

https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/4159/Caracterizacion_sistemica_de_la_coleccion_de_sapotaceas.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Giammarino, A., Bellucci, N., & Angiolella, L. (2024). *Galleria mellonella* as a Model for the Study of Fungal Pathogens: Advantages and Disadvantages. *Pathogens*, 13(3), 233. <https://doi.org/10.3390/pathogens13030233>

Gómez Marquez, I. C., & Urrea Ciro, O. N. (2016). *DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES BROMATOLÓGICAS, FÍSICOQUÍMICAS, TERMOFÍSICAS Y MECÁNICAS DEL CAIMITO (chrysophyllum cainito L) VARIEDAD MORADO CULTIVADO EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA Y ANTIOQUIA* [Tesis, UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1037/TRABAJO%20DE%20GRADO%20ISABEL%20CRISTINA%20G%c3%93MEZ%20Y%20ORFA%20NELLY%20URREA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gómez Romero, M. (2011). *Desarrollo y evaluación de estrategias analíticas para la caracterización de compuestos bioactivos en alimentos funcionales*. Editorial de la Universidad de Granada.

González, R. E., Tarón, A., & Morón, L. B. (2015). Formación de Microcápsulas de Tamaño Controlado por Gelación Iónica Utilizando Mezclas Biopoliméricas Binarias. *Información Tecnológica*, 26(6), 31-38. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000600005>

Granato, D., & Masson, M. L. (2010). Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: A response surface approach. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 1090-1096. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400039>

Guadalupe Pacahuala, N. J. (2014). *“ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS EN LAMINAS DE FRUTA DE SAÚCO (Sambucus peruvianus H.B.K.) Y MELOCOTÓN (Prunus persica L. Batsch) A DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECADO”* [Tesis]. Universidad Nacional del Centro del Perú.

-
-
- Habibi, A., Keramat, J., Hojjatoleslami, M., & Tamjidi, F. (2017). Preparation of Fish Oil Microcapsules by Complex Coacervation of Gelatin–Gum Arabic and their Utilization for Fortification of Pomegranate Juice. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12385. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12385>
- Hashim, D. M., Man, Y. B. C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., & Syahariza, Z. A. (2010). Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chemistry*, 118(3), 856-860. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.049>
- Hendry, G. A. F., & Houghton, J. D. (1996). *Natural Food Colorants* (Second edition). Springer US : Imprint : Springer.
- Hernández-Torres, C. de J., Llina, A., Ventura-Sobrevilla, J. M., Belmares-Cerda, R. E., Contreras-Esquivel, J. C., Michelena-Álvarez, G., & Martínez-Hernández, J. L. (2016). La microencapsulación de bioactivos para la aplicación en la industria. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), 12-19.
- Kale, S. N., & Deore, S. L. (2016). Emulsion Micro Emulsion and Nano Emulsion: A Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 8(1), 39-47. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.8>
- Kavanagh, K., & Fallon, J. P. (2010). Galleria mellonella larvae as models for studying fungal virulence. *Fungal Biology Reviews*, 24(1-2), 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2010.04.001>
- Klassen, D. R., & Nickerson, M. T. (2012). Effect of pH on the formation of electrostatic complexes within admixtures of partially purified pea proteins (legumin and vicilin) and gum Arabic polysaccharides. *Food Research International*, 46(1), 167-176. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.039>
- Ku Canul, C. Y. (2021). *EXTRACCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS DE CÁSCARA DE Chrysophyllum cainito L., CULTIVADO EN YUCATÁN*. Instituto Tecnológico de Mérida.

-
-
- López, A., & Di Sarli, A. R. (2016). EL MODELO CIELAB, LAS FÓRMULAS DE DIFERENCIA DE COLOR Y EL USO DE LA NORMA EUROPEA EN 12878 EN MORTEROS Y HORMIGONES COLOREADOS. *Ciencia y Tecnología de los Materiales*, 6.
- López Hernández, O. D. (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(3), 381-389.
- Lutz, M. (2013). Biodisponibilidad de compuestos bioactivos en alimentos. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(2), 217-226.
- Manzanarez Tenorio, L. E., Ruíz Cruz, S., Márquez Rios, E., Ornelas Paz, J. de J., Del Toro Sánchez, C. L., Wong Corral, F. J., Suárez Jiménez, G. M., Dévora Isiordia, G. E., & Holguin Soto, R. (2020). Microencapsulación de extractos de higo (*Ficus carica*) por coacervación compleja y evaluación de su capacidad antioxidante. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 22(2), 70-77.
- Mar Jiménez, R., & Vargas Simón, G. (2021). Arquitectura y anatomía foliar de *Chrysophyllum cainito* L. y comparación con otras especies de la familia sapotaceae. *Bioagro*, 34(1), 51-62. <https://doi.org/10.51372/bioagro341.5>
- Marfil, P. H. M., Paulo, B. B., Alvim, I. D., & Nicoletti, V. R. (2018). Production and characterization of palm oil microcapsules obtained by complex coacervation in gelatin/gum Arabic. *Journal of Food Process Engineering*, 41(4), e12673. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12673>
- Mendoza Isaza, N. A., Hoyos-Arbeláez, J. A., & Peláez-Jaramillo, C. A. (2020). Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de extractos de tallo de *Stevia rebaudiana* en varios modelos in vitro. *Revista EIA*, 17(34), 1-9. <https://doi.org/10.24050/reia.v17i34.1282>
- Mohammadlinejhad, S., & Kurek, M. A. (2021). Microencapsulation of Anthocyanins—Critical Review of Techniques and Wall Materials. *Applied Sciences*, 11(9), 3936. <https://doi.org/10.3390/app11093936>

-
-
- Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., Betancur-Ancona, D., & Sauri-Duch, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.127>
- Mosquera Vivas, E. S., Ayala Aponte, A. A., & Serna Cock, L. (2024). Importancia de la encapsulación de probióticos: Gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas prometedoras para uso alimentario. *Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 22(1), 105-123.
- Munin, A., & Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793-829. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3040793>
- Muñoz Gómez, A. (2015). *Estudio de la interacción molecular huésped-patógeno utilizando el modelo insecto-hongo Galleria mellonella-Fusarium oxysporum, mediante la caracterización de genes, proteínas y péptidos de defensa provenientes de la respuesta humoral innata y del ataque fungico*. [Universidad de Antioquia]. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/3094/1/Mu%C3%B1ozG%C3%B3mezA_2015_EstudiolInteraccionMolecular.pdf
- Nakagawa, K., Iwamoto, S., Nakajima, M., Shono, A., & Satoh, K. (2004). Microchannel emulsification using gelatin and surfactant-free coacervate microencapsulation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 278(1), 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.05.031>
- Nava Reyna, E., Álvarez, G., Iliná, A., & Martínez Hernández, J. L. (2015). *Microencapsulación de componentes bioactivos*. 23(66), 64-70.
- 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>

-
-
- Nogales Herrera, C. (2007). *Propagación del caimito (Chrysophyllum cainito L.) por estacas subterminales con hojas* [Tesis, Zamorano, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/d812a223-94d8-4418-b956-bb25f38b5040/content>
- Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias De Alencar, S., Thomazini, M., De Camargo Balieiro, J. C., & Contreras Castillo, C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 429-435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010>
- Orrego-Alzate, C. E. (2008). *Congelación y liofilización de alimentos*. Gobernación de Caldas.
- Otto, S., Krasowska, M., MacWilliams, S., Beattie, D., & Blencowe, A. (2024). The solid-state stability of anthocyanins under various conditions and the implications for storage and shelf-life. *Dyes and Pigments*, 231, 112367. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112367>
- Parra Huertas, R. A. (2010). *Revisión: Microencapsulación de Alimentos*. 63(2). <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a20v63n01.pdf>
- Piatek, M., Sheehan, G., & Kavanagh, K. (2020). Utilising *Galleria mellonella* larvae for studying in vivo activity of conventional and novel antimicrobial agents. *Pathogens and Disease*, 78(8), ftaa059. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftaa059>
- Piñeiro-Di Blasi, J. I., Martínez-Torres, J., Pozo-Antonio, J. S., Iglesias-Comesaña, C., Cuesta, L., Taboada-Castro, J., Gajino-Núñez, P., & Tresaco-Vidaller, E. (2014). Desarrollo de una aplicación para la comparación rápida de pigmentos a partir de sus coordenadas colorimétricas. *DYNA*, 81(184), 49-54.
- Porras Godínez, M. R. (2012). *COACERVACIÓN COMPLEJA A PARTIR DE WPI Y CMC TRATADOS CON ULTRASONIDO Y SU APLICACION EN LA LIBERACIÓN DE LINALOL* [Tesis]. Instituto Politécnico Nacional.

-
-
- Pradini, D., Juwono, H., Madurani, K. A., & Kurniawan, F. (2018). A preliminary study of identification halal gelatin using quartz crystal microbalance (QCM) sensor. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 14(3), 325-330.
- Púa-Rosado, A. L., Rodríguez-Sánchez, J. L., & Muñoz-Acevedo, A. (2020). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE PULPAS DE FRUTAS TROPICALES. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 30(2).
<https://revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/130/111>
- Quintana Cristancho, L. R., Calvo, F., & Alvarez, O. (2019). *Análisis comparativo de la microencapsulación de aceite de aguacate entre el método de coacervación compleja y el secado por atomización*.
<https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/983edefa-aeae-4b57-9129-fe0c7c8e4b53/content>
- Rabanal-Atalaya, M., & Medina-Hoyos, A. (2021). Análisis de antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *REVISTA TERRA LATINOAMERICANA*, 39. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.808>
- Ramírez Navas, J. S. (2006). *Liofilización de Alimentos* (Vol. 6).
- Rein, M. (2005). *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins* [Tesis].
<https://helda.helsinki.fi/server/api/core/bitstreams/92fdb4d0-2904-4730-b558-80d7a0be09b7/content>
- Rios-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: Una revisión. *TecnoLógicas*, 24(51), e1836. <https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Rocha-Selmi, G. A., Theodoro, A. C., Thomazini, M., Bolini, H. M. A., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Double emulsion stage prior to complex coacervation process for microencapsulation of sweetener sucralose. *Journal of Food Engineering*, 119(1), 28-32. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.002>

-
-
- Rodríguez Hernández, L. M., Aragüez Fortes, Y., & Pinoa, J. A. (2021). *Microencapsulación de aceites vegetales mediante secado por aspersión*. <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/400725/495002>
- 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.
- Ruiz Ciau, D. V. (2017). *Composición química y actividad antioxidante de aceites esenciales obtenidos de cinco especies de plantas cultivadas en yucatán*. [Tesis]. Instituto Tecnológico de Mérida.
- Ruiz Ulric, C. (2001). *EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTOCIANINAS MEDIANTE TÉCNICAS FISICOQUÍMICAS PARA SU USO EN PREPARADOS DE ALTA COCINA* [UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA]. https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/348388/CarlesRuizUlric_TrabajoFinalGrado.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rymbai, H., Dutta, S. K., Jha, A. K., Deshmukh, N. A., Verma, V. K., War, G. F., Paul, D., Patel, R. S., Chaudhri, P., Mishra, L. K., Roy, A. R., & Roy, D. (2015). *STAR APPLE (Chrysophyllum cainito)*. https://www.researchgate.net/publication/335240511_STAR_APPLE_Chrysophyllum_cainito
- Salamanca, G. G., Osorio, T. M., Nelson, R. A., & Abril, R. J. (2011). *PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS TERMOFÍSICAS Y REOLÓGICAS DE CREMOGENADOS DE FRUTAS TROPICALES*. https://www.researchgate.net/profile/Guillermo-Salamanca-Grosso/publication/313476563_PROPIEDADES_FISICOQUÍMICAS_TERMOFÍSICAS_Y_REOLÓGICAS_DE_CREMOGENADOS_DE_FRUTAS_TROPICALES_PHYSICOCHEMICAL_THERMOPHYSICS_AND_REOLOGY_PROPERTIES_IN_PUREE_OF_TROPICAL_FRUITS/links/589bcd57aca2721ae1b7ad39/PROPIEDADES-FISICOQUÍMICAS-TERMOFÍSICAS-Y-REOLÓGICAS-DE-CREMOGENADOS-DE-FRUTAS-TROPICALES-PHYSICOCHEMICAL-THERMOPHYSICS-AND-REOLOGY-PROPERTIES-IN-PUREE-OF-TROPICAL-FRUITS.pdf

-
-
- Sandoval-Peraza, V. M., Cu-Cañetas, T., Peraza-Mercado, G., & Acereto-Escoffié, P. O. M. (2016). INTRODUCCIÓN EN LOS PROCESOS DE ENCAPSULACIÓN DE MOLECULAS NUTRACÉUTICAS. *Alimentos Funcionales de Hoy*, 181-218.
- Sanguansri, P., & Augustin, M. A. (2006). Nanoscale materials development – a food industry perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 547-556. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.010>
- Santamaria Herrería, C. F. (2004). *Estudio de la biología floral del caimito (Chrysophyllum cainito L.) en El Zamorano, Honduras* [Tesis, EL ZAMORANO Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/0e2d741b-6e3d-4a06-89e5-cbf7e0d9617e/content>
- Santos Cervera, M. T. (2023). *Optimización de la extracción asistida por ultrasonidos de antocianinas de la cáscara de Chrysophyllum cainito L. y evaluación de sus propiedades bioactivas*. Instituto Tecnológico de Mérida.
- Sarabi-Aghdam, V., Mousavi, M., Hamishehkar, H., Kiani, H., Emam-Djomeh, Z., Mirarab Razi, S., & Rashidinejad, A. (2021). Utilization of chickpea protein isolate and Persian gum for microencapsulation of licorice root extract towards its incorporation into functional foods. *Food Chemistry*, 362, 130040. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130040>
- Serrano, I., Verdial, C., Tavares, L., & Oliveira, M. (2023). The Virtuous Galleria mellonella Model for Scientific Experimentation. *Antibiotics*, 12(3), 505. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030505>
- 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>
- Sukri, N., Putri, T. T. M., Mahani, & Nurhadi, B. (2023). Characteristics of propolis encapsulated with gelatin and sodium alginate by complex coacervation method.

International Journal of Food Properties, 26(1), 696-707.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2179635>

Suresh, S., & Vellapandian, C. (2024). Assessment of oral toxicity and safety profile of cyanidin: Acute and subacute studies on anthocyanin. *Future Science OA*, 10(1), FSO982. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2023-0322>

Talavera Urriburu, W. (2018). “EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN EN LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y VIDA ÚTIL DE LA CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.) EN POLVO” [Tesis, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga]. <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/269e5658-e763-4dae-83ed-cc3b761aea00/content>

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 347-357. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.058>

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>

Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Físicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51-56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>

Tsai, C. J.-Y., Loh, J. M. S., & Proft, T. (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*, 7(3), 214-229. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>

Valencia Arredondo, J. A. (2015). *Diseño de un sistema electroforético en flujo libre para purificar antocianinas de col morada (Brassica oleracea)* [Tesis, Instituto Politécnico

Nacional].

<https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/24113/1/Valencia%20Arredondo%2C%20Jes%C3%BAs%20Antonio.pdf>

Xue, L., Gao, R., Shen, L., Zheng, X., & Gao, M. (2023). Dependence of degradation of anthocyanins on non-uniformity of microwave heating in blueberry puree. *Food and Bioproducts Processing*, 139, 129-143. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.03.009>

Yahia, E. M., & Gutierrez-Orozco, F. (2011). Star apple (*Chrysophyllum cainito* L.). En *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 392-399e). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857092618.392>

Zambrano, J., Montilla, N., Riveros, R., Quintero, I., Maffei, M., Valera, A., & Materano, W. (2013). *CARACTERIZACIÓN DE FRUTOS DE CAIMITO (CHRYSOPHYLLUM CAÍNITO L) VARIEDADES VERDE Y MORADO E INFLUENCIA DE LA ÉPOCA DE COSECHA EN LA CALIDAD DE LOS FRUTOS*. 12(27). <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/38655/articulo6.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Zhang, P., & Zhu, H. (2023). Anthocyanins in Plant Food: Current Status, Genetic Modification, and Future Perspectives. *Molecules*, 28(2), 866. <https://doi.org/10.3390/molecules28020866>