



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

VOLUMEN XVIII | NÚMERO 4 | PUBLICACIÓN CONTINUA 2024

TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología

SPECIAL ISSUE

**VALORISATION STRATEGIES OF AGRI-FOOD PRODUCTS AND
BY-PRODUCTS FOR THE INGREDIENTS AND FUNCTIONAL
FOODS DEVELOPMENT WITH CONSUMER HEALTH IMPACT**

EDITORES RESPONSABLES:

DR. JOSÉ DE JESÚS ZAZUETA MORALES
DR. GERARDO MÉNDEZ ZAMORA
DR. MIGUEL ÁNGEL SÁNCHEZ MADRIGAL
DR. DIEGO ELOY CARBALLO CARBALLO
DR. JAVIER MATEO OYAGÜE





UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Directorio Institucional

Mtro. Luis Alfonso Rivera Campos

Rector

**C.P. Jesús Ignacio
Rodríguez Bejarano**

Secretario General

**Dr. Luis Carlos Hinojos
Gallardo**

*Director de Investigación y
Posgrado*

**Dra. Ruth del Carmen
Grajeda González**

*Directora de Extensión y
Difusión Cultural*

**Lic. Martha Lorena Mier
Calderón**

Directora Académica

**L.A.E. Alberto Eloy
Espino Dickens**

Director Administrativo

**M.A.P. Marcela Herrera
Sandoval**

*Directora de Planeación y
Desarrollo Institucional*



TECNOCENCIA CHIHUAHUA
Revista de ciencia y tecnología

Equipo Editorial

Editor responsable

Dr. Armando Quintero Ramos, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII III)

Asistente editorial

M.E.S. Nancy Karina Venegas Hernández, Universidad Autónoma de Chihuahua, México.

Co-editores

Dr. Rubén Francisco González Laredo, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

Dr. Javier Tarango Ortiz, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII, Nivel II)

Corrector de Estilo

Dr. Fidel González Quiñones, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII, Nivel I)

COMITÉ CIENTÍFICO

- **Alimentos y Biotecnología**

Dr. Benjamín Ramírez Wong, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

Dr. José Alberto Gallegos Infante, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

Dr. José Rafael Minjares-Fuentes, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México. (SNII, Nivel I)

Dra. María Marcela Rodríguez, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

Dra. Valeria Soledad Eim Iznardo, Universidad de las Islas Baleares, Islas Baleares, España.

Efrén Delgado, Ph.D., New Mexico State University, Las Cruces, NM. Estados Unidos de Norteamérica.

Dra. Elizabeth Carvajal Millán, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

Dr. Fernando Martínez Bustos, CINVESTAV, Unidad Querétaro, Querétaro, México. (SNII, Nivel III)

Dr. León Raúl Hernández Ochoa, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNII, Nivel I)

Dr. José de Jesús Zazueta Morales, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán México. (SNII, Nivel I)

Dr. Diego Bautista Genovese, [PLAPIQUI] Planta Piloto de Ingeniería Química-CONICET, Bahía Blanca Argentina.

Dra. Aracely Ochoa Martínez, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel II)

Dra. Deborah Murowaniecki Otero, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahía, Brasil.

Dr. René Renato Balandrán Quintana, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (SNII, Nivel I)

- **Agricultura y Agropecuaria**

Dr. Gerardo Méndez Zamora, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. (SNII, Nivel I)

Dr. Guillermo Fuentes Dávila, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

Dr. Víctor Arturo González Hernández, Colegio de Posgraduados. Estado de México, México (SNII, Nivel III)

Dra. Yolanda Salinas Moreno, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Departamento de Genética, México. (SNII, Nivel III)

- **Química y Biología**

Dr. Eleuterio Burgueño Tapia, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. México. (SNII, Nivel II)

Nadezhda Traycheva Petkova, PhD., University of Food Technologies, Technological Faculty, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry, Bulgaria.

Dr. Ricardo Vázquez Juárez, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR), México. (SNII, Nivel II)

Dra. Carmen Oralía Meléndez Pizarro, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

Dr. David Morales Morales, Universidad Nacional Autónoma de México (SNII, Nivel III).

Dr. René Rojas Guerrero, Pontificia Universidad Católica de Chile: Santiago, Metropolitana, CL

Prasenjit Ghosh, Ph.D. Indian Institute of Technology Bombay: Mumbai, Maharashtra, IN

Dr. Johan Mendoza Chacón, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNII, Nivel I)

- **Salud y Cultura Física**

Dr. Julián Esparza Romero, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C (CIAD). Unidad Hermosillo, Sonora. México (SNII, Nivel II)

Dra. Carolina Jiménez Lira, Universidad Autónoma de Chihuahua.(SNII, Nivel I)

Dra. Jazmín Leticia Tobías Espinoza, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Candidato a Investigador)

Dr. Arnulfo Ramos Jiménez, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. (SNII, Nivel I)

Dra. Silvia Giono Cerezo, Instituto Politécnico Nacional. (SNII, Nivel II)

Dra. América Chávez Martínez, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel I)

Dra. Susana Aideé González Chávez, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

Dra. Mercedes Bermúdez Cortés, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel I)

• **Ingeniería y Recursos Naturales**

Dr. Francisco Paraguay Delgado, Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) Chihuahua, México. (SNII, Nivel III)

Dr. Vladimir Villarreal Contreras, Universidad Tecnológica de Panamá. Panamá

Dr. Jesús Darío Landa Silva, School of Computer Science, University of Nottingham, Reino Unido.

Dr. Humberto González Rodríguez, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. (SNII, Nivel II)

Dra. Mérida Gutierrez, Missouri State University, Springfield, MO, USA.

Dr. Sergio Valle Cervantes, Instituto Tecnológico de Durango (SNII, Nivel I)

• **Tecnología**

M.C. Ricardo Talamás Abbud, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México

CONTENIDO

Definición de la revista

7

Alimentos

e1594

Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de cálices de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de diferentes orígenes

Phenolic compounds and antioxidant capacity of extracts from calyces of (*Hibiscus sabdariffa* L.) varieties of different origins

Yolanda Salinas-Moreno, César Sánchez-Feria, Miguel Ángel Martínez-Ortiz

Physicochemical and functional properties of yogurt enriched with ultrafiltered juice of Red Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*) as a functional ingredient

e1614

Propiedades fisicoquímicas y funcionales de yogurt enriquecido con jugo ultrafiltrado de tuna roja (*Opuntia ficus-indica*) como ingrediente funcional

Alondra Valadez Pineda, Gerardo Méndez Zamora, Nydia Corina Vásquez Aguilar, Luisaldo Sandate Flores, Carlos Alberto Hernández Martínez, Sugey Ramona Sinagawa García

Evaluación y caracterización fisicoquímica, nutraceutica, microbiológica y sensorial de una bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales

e1678

Evaluation and physicochemical, nutraceutical, microbiological and sensory characterization of a beverage formulated from agroindustrial by-products

Cynthia Torres-Álvarez, Guadalupe Gutiérrez-Soto, Marco Antonio Almaraz-Juárez, Guillermo Niño-Medina, Sandra Castillo, Pablo Alan Rodríguez-Salinas



Effect of a black garlic extract combined with ascorbic acid on the colour and lipid oxidative stability of patties e1683

Efecto de un extracto de ajo negro combinado con ácido ascórbico sobre el color y la oxidación lipídica de hamburguesas

Nuria Fernández Fernández-Valladares, Irma Caro, Javier Mateo, Mauricio Fernando Mariño Almache

Extracción de fibra dietaria de cáscara de naranja mediante microondas y método convencional: Propiedades macromoleculares y funcionales e1686

Extraction of Dietary Fiber from Orange Peel Using Microwave and Conventional Method: Macromolecular and Functional Properties

Ricardo Montañez-Domínguez, Luz Aracely Ochoa-Martínez, Juliana Morales-Castro, Silvia Marina González-Herrera

Encapsulation of betalains from beetroot stem by spray drying using Aloe vera gel as Carrier e1636

Encapsulación de betalaínas de tallo de betabel mediante secado por aspersión utilizando como agente acarrareador gel de Aloe vera

José Carlos Castillo-Altamirano, Miguel Ángel Sánchez Madrigal, Armando Quintero-Ramos, Martha Graciela Ruiz Gutiérrez

Guía para Autores 107

DEFINICIÓN DE LA REVISTA

TECNOCIENCIA CHIHUAHUA, es una revista multidisciplinaria, de publicación continua, que publica artículos y notas científicas, así como artículos de revisión *por invitación* originales e inéditos, en español e inglés, en formato electrónico de acceso abierto.

El objetivo de TECNOCIENCIA CHIHUAHUA es divulgar los resultados y avances de investigación originales e inéditas en las áreas temáticas de Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales, dirigidos a investigadores, académicos, estudiantes y público con interés científico.

El contenido científico y calidad de los artículos son evaluados a través de un proceso de arbitraje de forma anónima en la modalidad de doble ciego por al menos dos árbitros especializados en la materia.

La revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA es editada y financiada por la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chihuahua, México. La revista está adherida a la Declaración de San Francisco a través de DORA (Declaration on Research Assessment) se encuentra indexada en índices y portales especializados como DOAJ (Directory of Open Access Journals), MIAR (Matriz de Información para el Análisis de Revistas), Latindex 2.0, Periódica y en Redes Académicas como Biblat, Google Académico y Academia. La revista cuenta con el DOI (Digital Object Identifier) a través de la organización internacional Crossref.

Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de cálices de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de diferentes orígenes

Phenolic compounds and antioxidant capacity of extracts from calyces of (*Hibiscus sabdariffa* L.) varieties of different origins

Yolanda Salinas-Moreno¹, César Sánchez-Feria², Miguel Ángel Martínez-Ortiz^{1*}

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, C.P. 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

² Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic, CP 63175, Tepic, Nayarit, México.

*Correspondencia: martinez.miguel@inifap.gob.mx (Miguel Ángel Martínez-Ortiz)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1594>

Recibido: 31 de julio de 2024; Aceptado: 19 de noviembre de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Luz Araceli Ochoa-Martínez

Resumen

Los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) son fuente de bioactivos con aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. El objetivo del estudio fue analizar el contenido de antocianinas (CAT), las fracciones de ácidos fenólicos (AF), y determinar la capacidad antioxidante (CA) en extractos de cálices de jamaica. Se emplearon tres variedades de jamaica, dos de origen nacional (cálices claros) y una de importación (cálices oscuros). Se utilizaron dos solventes de forma individual: agua (~95 °C) y metanol acidificado (a temperatura ambiente). El CAT y los AF fraccionados (libres, glucosilados y esterificados) se cuantificaron por espectrofotometría y se analizaron por HPLC. La CA se determinó mediante el radical estable DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazilo). El extracto acuoso presentó 51 % de CAT, en comparación con el 63.7 % en el extracto metanólico. El perfil de antocianinas no se modificó por el procedimiento de extracción. En el extracto acuoso, la fracción de AF esterificados fue la más importante, mientras la menor fue la de AF libres. Los ácidos fenólicos más abundantes fueron el clorogénico y el cafeico. Asimismo, la mayor CA fue en el extracto acuoso de la jamaica China, debido a su elevado CAT. Sin embargo, en el análisis de las muestras estandarizadas en CAT a 100 µg/mL, el extracto de jamaica China presentó la menor CA. La extracción de bioactivos de los cálices de jamaica es mayor en metanol que en extracto acuoso. La jamaica de importación presenta un mayor contenido de antocianinas en comparación de las jamaicas nacionales.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa* L., solvente, ácido clorogénico, antocianinas.

Abstract

Hibiscus sabdariffa L. calyces are a source of bioactive compounds with applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. This study aimed to analyze the content of anthocyanins (CAT) and fractions of phenolic acids (PA) in hibiscus calyx extracts and to determine their antioxidant capacity (AC). Three hibiscus varieties were used: two of national origin with light-colored calyces and one imported (dark-colored calyces). Two solvents were used individually: water (~95 °C) and acidified methanol (at room temperature). CAT and fractionated phenolic acids (free, glycosylated, and esterified) were quantified using spectrophotometry and analyzed by HPLC. AC was determined using the DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical assay. The aqueous extract showed 51 % AC, compared to 63.7 % in the methanolic extract. However, the anthocyanin profile remained unchanged across extraction methods. In the aqueous extracts, esterified phenolic acids were the most prominent, while free phenolic acids were the least. Chlorogenic and caffeic acids were the most abundant phenolic acids identified. Furthermore, the highest AC was found in the aqueous extract of Chinese roselle, due to its high CAT. However, in the analysis of the samples standardized to 100 µg/mL CAT, the Chinese roselle extract presented the lowest AC. The bioactive yield of hibiscus calyces is influenced by both the extraction method and the variety used. The extraction of bioactives from hibiscus calyces is higher in methanol than in aqueous extract. Imported hibiscus has a higher anthocyanin content compared to domestic hibiscus.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa* L., solvent, chlorogenic acid, anthocyanins.

1. Introducción

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta herbácea, de la familia de las Malváceas, oriunda de India, de donde se distribuyó a África y a diferentes partes del mundo, incluido el continente americano, que es cultivada en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Riaz y Chopra, 2018). Los cálices de su flor son aprovechados para la elaboración de diversos productos de consumo humano, entre los que destacan las bebidas, que se consumen tanto calientes como frías (Cid-Ortega *et al.*, 2015). Debido a la diversa composición fitoquímica que poseen sus cálices (Chisomo-Chatepa *et al.*, 2023), se le atribuyen efectos terapéuticos en la medicina tradicional para tratar afecciones como resfriados, fiebre, presión arterial, problemas renales, hígado graso, entre otras (Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2012).

Los principales grupos de compuestos fenólicos en los cálices de jamaica son las antocianinas y los ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019; Li *et al.*, 2023), que se han asociado con actividades biológicas como antioxidante (Galicía-Flores *et al.*, 2008), antiinflamatoria (Zhang *et al.*, 2024), anti hipercolesterolémica (Yang *et al.*, 2010) y despigmentante (Yagi *et al.*, 2023). Estos hallazgos posicionan a los cálices de jamaica como fuente importante de bioactivos para las industrias de alimentos, farmacéutica y cosmética. Las principales antocianinas presentes en los cálices de jamaica son delfinidina 3-sambubiósido y cianidina 3-sambubiósido, que representan en promedio el 65 y 30 % del total de las antocianinas, respectivamente. En cuanto a los ácidos fenólicos, el más abundante es el ácido clorogénico, reconocido por sus importantes actividades biológicas asociadas con beneficios a la salud (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019).

El contenido de los principales grupos de compuestos fenólicos en los cálices de jamaica varía ampliamente. Por ejemplo, el contenido de antocianinas varía significativamente dependiendo del color de los cálices: rojo claro, rojo oscuro y blanco (Salinas-Moreno *et al.*, 2012), y también se presentan diferencias en el contenido de los ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015). Por otro lado, los métodos de extracción aplicados para obtener los bioactivos de los cálices, influyen de manera importante en la cantidad que se recupera (Chisomo-Chatempa *et al.*, 2023). Entre los factores que se involucran en el método de extracción, el tipo de solvente utilizado desempeña un papel relevante (Morales-Cabrera *et al.*, 2013), pues, debido a que la polaridad del solvente impacta en la solubilidad y la estabilidad, este influye en el rendimiento y la calidad del extracto. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos y antocianinas se extraen mejor con solventes como agua, metanol o etanol (Abou-Arab *et al.*, 2011). Además, se ha documentado que ciertas condiciones aportan mayor estabilidad, como es el caso de las antocianinas, donde un pH inferior a 2 permite mayor estabilidad del ión flavilio (Abou-Arab *et al.*, 2011; Escobar-Ortiz *et al.*, 2021) mientras que al aumentar el pH (7.00) se propicia la formación de otras estructuras como *cis* y *trans* chalcona (Maciel *et al.*, 2018). El principal solvente para la preparación de extractos de jamaica es el agua, mientras que, para realizar análisis de compuestos y mejores condiciones de extracción el metanol acidificado es el solvente reconocido.

En México, los cálices de jamaica que se comercializan provienen de la producción nacional y de importación, con predominio de la jamaica importada, misma que se vende a menor precio que la nacional. Además, los estudios publicados sobre las características de composición fenólica y propiedades antioxidantes de la jamaica nacional e importada, que puedan orientar al consumidor sobre los beneficios de consumir una u otra son escasos. Tal efecto ha hecho que la producción nacional y su economía se vean afectadas, con este tipo de análisis de compuestos fenólicos y antioxidantes, se busca caracterizar las variedades nacionales para impulsar su consumo.

Con base en lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron analizar en cálices de jamaica nacional e importados las antocianinas y ácidos fenólicos en extractos de cálices de jamaica obtenidos mediante dos procedimientos de extracción y determinar su capacidad antioxidante.

2. Materiales y métodos

2.1 Reactivos y material de estudio

2.1.1 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: ácido trifluoroacético (J.T. Baker, México), cianidina 3-glucósido (Polyphenols AS, Sandnes, Noruega), ácido trifluoroacético grado HPLC (Sigma-Aldrich, MN, USA), metanol (Sigma-Aldrich, MN, USA), ácido fórmico (Merck, Toluca, México), ácido clorhídrico HCl, Hidróxido de sodio NaOH (J.T. Baker, México), acetato de etilo (AE), reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, MN, USA), los siguientes ácidos fenólicos: caféico, clorogénico, ferúlico, gálico, protocatecuico, p-cumárico, p-hidroxibenzóico, sinápico, salicílico, siríngico y vanílico (Sigma, St. Louis, MO), 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) (Sigma-Aldrich, Toluca, MX), acrodisco PVDF 0.45 μm (Millipore Corporation, MA, USA), membranas de nylon de 0.45 μm (Sigma-Aldrich, Toluca, MX).

2.1.2 Material de estudio

Se emplearon tres muestras de cálices deshidratados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dos de origen nacional; Tecoaapa (Guerrero) y Huajicori (Nayarit), de cálices rojo claro proporcionadas por productores, y una tercera muestra correspondiente a una jamaica de importación de origen chino, de cálices rojo oscuro, que se adquirió en un mercado local de la ciudad de México.

2.2 Métodos

2.2.1 Obtención de extractos

Dos métodos de extracción fueron probados: extracción acuosa y extracción metanólica. Para la extracción acuosa: se colocaron 10 g de cálices de jamaica enteros y deshidratados en vasos de precipitados de 500 mL, y se agregaron 150 mL de agua destilada; la muestra se llevó a ebullición durante 15 min en un digestor de fibra cruda modificado. Se realizaron tres extracciones en las mismas condiciones para cada muestra, se mezcló y midió el volumen final total.

La extracción metanólica se realizó a partir de 1 g de muestra molida (malla de 0.5 mm), a la que se agregaron 20 mL de metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (TFA), manteniéndose en refrigeración durante 24 horas. El sobrenadante se separó mediante centrifugación (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) a 2200 xg durante 10 min. Al residuo se le realizaron dos extracciones adicionales sucesivas empleando como disolvente metanol: ácido acético: agua (10:1:9 v/v/v). En este caso, las muestras se mantuvieron en agitación orbital (model G10®, New Brunswick, NJ, USA) por 24 horas a temperatura ambiente. Cada una de las extracciones por tratamiento fue colectada y se midió su volumen total.

Cada extracto se manejó por separado. El extracto de metanol TFA se empleó para el análisis de antocianinas por HPLC ya que el TFA preserva mejor la estructura de las antocianinas que el ácido acético (Maciel *et al.*, 2018). También se cuantificó en cada uno de estos extractos el contenido de antocianinas totales.

2.2.2 Cuantificación de antocianinas totales

Se midió la absorbancia de los extractos en metanol y agua utilizando un espectrofotómetro PerkinElmer (Lambda 25 UV/Vis) de acuerdo a lo descrito por Salinas-Moreno *et al.* (2005). Se elaboró una curva estándar con cianidina 3-glucósido en un rango de 0 a 30 ppm para expresar el contenido total de antocianinas en función de este compuesto. La concentración de antocianinas totales (CAT) se expresó en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido por kg de muestra seca (mg ECG kg⁻¹ MS).

2.2.3 Análisis de antocianinas por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Este análisis se realizó a partir del extracto de antocianinas con metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (TFA) del que se tomó una alícuota de 10 mL y se purificó de acuerdo a lo descrito por Salinas-Moreno *et al.* (2005) en una columna con Amberlita XAD-7. La muestra purificada se filtró en un acrodisco Millipore PVDF 0.45 μm y se depositó en viales ámbar a temperatura de congelación hasta su análisis por el HPLC. El cromatógrafo fue un PerkinElmer serie 200, integrado con una bomba cuaternaria con desgasificador, detector de UV/Vis con arreglo de diodos y automuestreador. La columna fue una C18 Hypersil ODS (200 x 4.6 mm, 5 micras). El método de análisis fue el descrito por Fossen *et al.* (2001) que emplea un sistema de gradientes con dos disolventes: A, que fue ácido fórmico:agua (1:9 v/v) y el B fue ácido fórmico:agua:metanol (1:4:5 v/v/v). Todos los solventes empleados fueron grado HPLC y antes de utilizarse se filtraron a través de membranas de nylon de 0.45 μm con ayuda de una bomba de vacío. El volumen de muestra inyectado fue de 20 μL y el tiempo de análisis de 21 min. La detección de las antocianinas se realizó a 525 nm, manteniendo una temperatura en la columna de 25 °C y una velocidad de flujo de 1.2 mL•min⁻¹. La identidad de las antocianinas del extracto de jamaica se efectuó mediante la comparación del perfil obtenido con los reportados en estudios previos (Sukwattanasinit *et al.*, 2007; Segura-Carretero *et al.*, 2008), ya que no se contaba con los estándares de antocianinas reportados en los cálices de esta especie.

2.2.4 Fraccionamiento de ácidos fenólicos y cuantificación

Las fracciones de ácidos fenólicos obtenidas fueron libres, glucosilados y esterificados de acuerdo con el método descrito por Bakan *et al.* (2003). La hidrólisis ácida o alcalina facilita la liberación de los ácidos a su forma libre, que es fácil de analizar por HPLC. Brevemente, del extracto final se tomaron 20 mL (apartado 2.2.1). Para los ácidos fenólicos libres, la alícuota se ajustó a pH de 2 con HCl 2 N. Se realizaron dos extracciones líquido-líquido con acetato de etilo (AE), las cuales se mezclaron y concentraron a sequedad en un rotaevaporador (Heidolph instruments, mod. Laborata 4010 digital), el residuo se resuspendió en 1 mL de metanol grado HPLC y se almacenó a temperatura de congelación para su posterior análisis.

La fase acuosa restante proveniente de las extracciones líquido-líquido fue medida y aforada con agua destilada a un volumen de 20 mL que se dividió en dos volúmenes iguales. A uno de ellos se agregaron 10 mL de HCl para la hidrólisis de ácidos fenólicos glucosilados (a temperatura de refrigeración por 1 h), mientras que a la otra fracción se le adicionaron 10 mL de NaOH 2N para la hidrólisis de ácidos fenólicos esterificados (en oscuridad durante 3 h a temperatura ambiente), las extracciones líquido-líquido se realizaron según lo descrito para la fracción de ácidos fenólicos libres. Cada fracción de ácidos fenólicos se concentró a sequedad en el rotaevaporador, el residuo se resuspendió en un mL de metanol grado HPLC. A partir de esta muestra se analizaron los compuestos fenólicos solubles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) y se realizó el análisis de ácidos fenólicos por HPLC.

2.2.5 Análisis de ácidos fenólicos por HPLC

El análisis de las fracciones de ácidos fenólicos (libres, glucosilados y esterificados) se realizó según el método de Głowniak *et al.* (1996). Se utilizó el cromatógrafo descrito en la sección de análisis de antocianinas, y una columna analítica Hypersil ODS.2 (250 x 46 mm) con tamaño de partícula de 5 μm . La fase móvil fue una mezcla de metanol: ácido acético:agua (25:1:75 v/v/v) a un flujo de 1 mL•min⁻¹. El tiempo de análisis fue de 22 min. La detección de ácidos fenólicos se realizó a 254 y 320 nm, manteniendo la columna a 30 °C. Se prepararon curvas patrón de los ácidos: caféico, clorogénico, ferúlico, gálico, protocatecuico, p-cumárico, p-hidroxibenzóico, sinápico, salicílico, siríngico y vanílico, utilizando como disolvente la solución de fase móvil. La identificación de ácidos fenólicos en los extractos acuosos de jamaica se realizó mediante la comparación de su tiempo de retención con el de estándares comerciales, y con el espectro en UV-visible obtenido con el detector de arreglo de diodos, además del apoyo con literatura publicada al respecto (Amaya-Cruz *et al.*, 2019; Yagi *et al.*, 2023).

2.2.6 Capacidad antioxidante

Esta variable se determinó únicamente en los extractos acuosos debido a que en la preparación de las bebidas refrescantes a partir de cálices de jamaica se utiliza agua como solvente. Se empleó el método de DPPH, el cual consiste en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) (Prior *et al.*, 2005). Los extractos acuosos de los cálices fueron los utilizados en esta prueba. Se prepararon soluciones a partir de un volumen conocido del extracto (500 μL) al que se añadió un volumen igual de agua destilada para tener 1 mL. Con el fin de evaluar los extractos a una concentración estandarizada de antocianinas en las tres variedades analizadas (siendo las antocianinas los principales compuestos antioxidantes del extracto), se probaron soluciones a una concentración ajustada de 100 μg de antocianinas por mL de cada extracto. Se preparó una solución 200 μM de DPPH en metanol al 80 %, de la cual se tomaron 2900 μL y 100 μL del extracto. Para la absorbancia de referencia, en lugar de muestra, se emplearon 100 μL de agua. Se midió la absorbancia de la muestra cada 30 s durante 60 min a 515 nm, en un espectrofotómetro PerkinElmer, Lambda 25 UV/Vis, utilizando como blanco metanol al 80 %. Los cálculos para obtener el porcentaje de DPPH reducido se realizaron con la expresión: % DPPH = $(A_0 - A_n)100 / A_0$; donde A_0 y A_n fueron las absorbancias de referencia y muestra, respectivamente.

2.2.7 Diseño experimental y análisis de datos

Cada análisis se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media de estos. Los datos sobre contenido de antocianinas y ácidos fenólicos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar. Se realizaron comparaciones de medias, cuando fue necesario, mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Se utilizó el software estadístico SAS system, versión 9.0.

3. Resultados y discusión

3.1 Compuestos fenólicos

Los dos grupos de compuestos fenólicos más importantes en los cálices de jamaica son antocianinas y ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019), que presentan máximos de absorción a diferentes longitudes de onda. El primer grupo conformado por ácidos fenólicos absorben entre 200 y 400 nm; mientras que el segundo, correspondiente a las antocianinas, donde su espectro de absorción se ubicó en el rango de 515 a 520 nm.

3.2 Cuantificación y análisis de Antocianinas

La cantidad de antocianinas totales extraída con cada procedimiento de extracción aplicado fue diferente. Cuando se utilizó muestra molida y metanol acidificado como solvente, se obtuvo mayor CAT ($P \leq 0.05$). Bajo este protocolo, la muestra de China mostró una concentración de $19,543.2 \pm 248.3$ mg ECG kg^{-1} de muestra. Sin embargo, cuando se empleó agua como disolvente y la muestra en cálices enteros, la concentración disminuyó hasta el 41 %. En el caso de las muestras de Guerrero y Nayarit las concentraciones obtenidas con metanol acidificado como solvente fueron de 9546.5 ± 199.4 y 8639.8 ± 108.2 mg ECG kg^{-1} , respectivamente, en tanto que, cuando se empleó agua destilada las concentraciones disminuyeron hasta 36 % y 48 % respectivamente. Al emplear cálices enteros y agua como disolvente, se extrajeron entre un 51 y 63.7 % menos antocianinas que cuando se empleó la muestra de cálices molida y metanol acidificado como disolvente (Fig. 1).

Para una misma variedad, las diferencias en CAT observadas en los extractos de las variedades de jamaica se deben a la condición de la muestra y al solvente empleado. En parte, la recuperación de metabolitos está asociado a la afinidad de los solventes y condiciones de extracción, donde factores como temperatura, pH, favorecen la recuperación de metabolitos. También se ha documentado que, el uso de agua o etanol al 12 % como solventes no arroja diferencias significativas en la cantidad de antocianinas extraídas (Prenesti *et al.*, 2007).

La menor concentración de antocianinas en el extracto acuoso de los cálices de las variedades de jamaica coincide con lo reportado por Chisomo-Chatepa *et al.* (2023), quienes reportaron 45.5 % menos antocianinas en el extracto acuoso en relación al extracto metanólico, con el empleo de cálices molidos para ambos disolventes. Según estos autores, la mayoría de los metabolitos de los cálices de jamaica son de naturaleza polar, y el metanol acidificado es más polar que el agua. Otro factor a considerar es el pH del solvente de extracción. El pH del metanol ácido se ubicó en alrededor de 1.0, en tanto que el pH de extractos acuosos de jamaica varía entre 2.16 y 2.8 (Galicía-Flores *et al.*, 2008). Mientras menor sea el pH mayor es la predominancia de la forma química catión flavilium de la antocianina (Brouillard, 1982), que absorbe fuertemente a la longitud de onda a la cual se cuantifican las antocianinas.

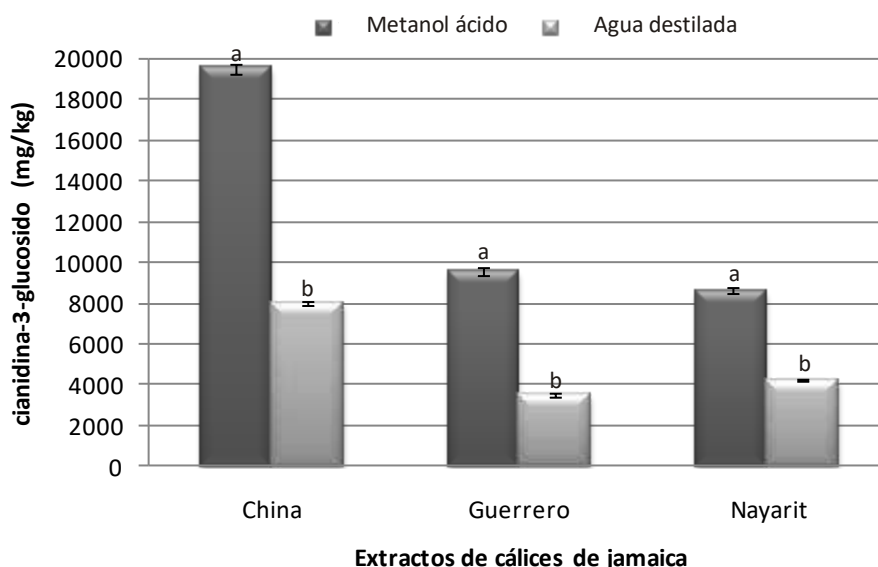


Figura 1. Concentración de antocianinas en los extractos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. obtenidos con diferentes disolventes. La comparación de concentración de antocianinas se realizó entre solventes de extracción, para cada variedad de hibiscus analizada.

Figure 1. Concentration of anthocyanins in extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces obtained with different solvents. The comparison of anthocyanins concentration was between solvents for each hibiscus variety analyzed.

La temperatura de ebullición (~92 °C) aplicada en la extracción acuosa de los cálices también pudo influir en el menor CAT de estos extractos, pues las antocianinas son inestables a temperaturas por arriba de los 60 °C (Enaru *et al.*, 2021).

Los valores reportados para la concentración de antocianinas en cálices de jamaica varían en función del tipo de cálices empleada; por ejemplo, los de color rojo claro tienen menos antocianinas que los de color rojo oscuro (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Además, el procedimiento de extracción, que incluye factores como el tipo de solvente, condición de la muestra (molida o entera), interfieren en la recuperación y obtención de compuestos bioactivos a analizar. Así también, la aplicación de tecnologías no convencionales como ultrasonido (Sahin *et al.*, 2020), microondas (Cassol *et al.*, 2019), y pulsos eléctricos (Sridhar *et al.*, 2021), para la extracción de compuestos bioactivos, han evidenciado mayores recuperaciones de los mismos, en este contexto, se recomienda para futuras investigaciones la aplicación de estas tecnologías.

El análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) del extracto de los cálices reveló ocho picos, de los cuales los más prominentes fueron 2 y 5 que corresponden a delfinidina 3-sambubiósido y cianidina 3-sambubiósido (Alañón *et al.*, 2020). La Fig. 2 ilustra el perfil de antocianinas de la jamaica de China, perfil que fue similar en las muestras de Guerrero y Nayarit.

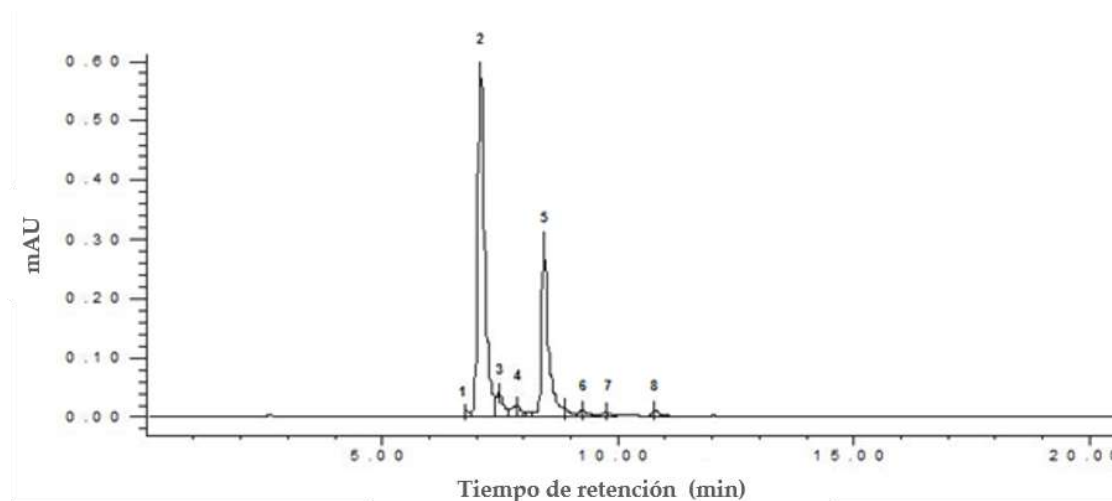


Figura 2. Perfil de antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) del extracto metanólico de jamaica China. La identidad de los picos se encuentra en la Tabla 1.

Figure 2. Anthocyanin profile by high-performance liquid chromatography (HPLC) of the methanolic extract of Chinese hibiscus. The identity of the peaks is shown in Table 1.

Las antocianinas minoritarias presentes en los cálices de jamaica corresponden a delfinidina 3-glucósido (pico 1), cianidina 3-rutinósido (pico 6) y cianidina 3-diglucósido (pico 7) (Segura-Carretero *et al.*, 2008). El número de antocianinas identificadas en los cálices de jamaica se incrementa cuando se utilizan herramientas de análisis más sensibles, como es la espectroscopía de masas en la modalidad QTOF-MS (quadrupole time of flight mass spectrometry), así, Amaya-Cruz *et al.* (2019) reportaron 13 antocianinas en los cálices de una variedad de jamaica obtenida en Guerrero, en las que además de los derivados de delfinidina y cianidina ya reportados, identificaron un derivado de pelargonidina. Por su parte, Debelo *et al.* (2023), mediante espectroscopía de masas identificaron derivados de petunidina en cálices de jamaica cultivada en Senegal. En este contexto, el uso de técnicas analíticas más sofisticadas mejora significativamente la identificación de compuestos minoritarios presentes en los extractos analizados, lo cual aporta una elucidación más amplia y puntual de los metabolitos presentes en extractos vegetales.

El porcentaje relativo de las antocianinas predominantes en los cálices de las variedades de China y Nayarit fue similar, y ligeramente inferior al de la variedad de Guerrero (Tabla 1). Los porcentajes relativos de área obtenidos para las antocianinas predominantes en los cálices de jamaica son parecidos a los informados por otros autores (Ifie *et al.*, 2018), aunque estos porcentajes pueden variar de acuerdo con la variedad y las condiciones de cultivo.

Tabla 1. Porcentaje relativo de área de las antocianinas contenidas en extractos de cálices de tres variedades diferentes de jamaica.**Table 1.** Relative percentage of area of the anthocyanins contained in extracts of calyces from three different hibiscus varieties.

No.	Identidad de los Picos	Variedades de jamaica*		
		China	Guerrero	Nayarit
1	Delfinidina 3-glucósido	0.7	1.2	1.7
2	Delfinidina 3-sambubiósido ⁺	59.1	64.3	59.2
3	Delfinidina 3-glucósido ⁺	4.3	4.4	7.3
4	NI	2	1.8	4.2
5	Cianidina 3-sambubiósido ⁺	31.5	27.6	21.8
6	Cianidina 3-rutinósido [#]	1	ND	2.1
7	Cianidina 3-diglucósido [#]	0.5	ND	1.4
8	NI	0.8	0.7	2.4

*Valores expresados en porcentaje relativo de área (%).

NI: No identificado.

ND: No detectado.

+: Según Sukwattanasinit *et al.* (2007).#: Según Segura-Carretero *et al.* (2008).

3.3 Ácidos fenólicos

La Fig. 3 muestra el cromatograma de los estándares de ácidos fenólicos utilizados (Fig. 3A), y de las tres fracciones de ácidos fenólicos (Fig. 3B). Bajo el protocolo de análisis empleado se observó buena resolución de la mezcla de estándares. En las muestras la resolución fue adecuada, con excepción del pico 3, correspondiente al ácido clorogénico, que mostró una señal inmediata no identificada. No obstante, bajo estas condiciones fue posible cuantificar el ácido clorogénico.

El análisis fraccionado de los ácidos fenólicos de los extractos acuosos de cálices de jamaica de las variedades examinadas mostró que, del total de compuestos fenólicos solubles en el extracto de jamaica China, 27.3 % fueron fenoles libres, 31.0 % glucosilados y 41.7 % esterificados; el de Guerrero presentó 25.2 % de libres, 28.6 % de glucosilados y un 46.2 % de esterificados, en tanto que el de Nayarit tuvo 22.1 % de fenoles libres, 25.6 % de glucosilados y un 52.3 % de esterificados. La fracción más abundante (compuestos fenólicos esterificados) corresponden a aquellos no ligados a los componentes de la pared celular, y que están unidos a su estructura mediante un enlace éster (Reyes-Luengas *et al.*, 2015), que es sensible a condiciones de pH alcalino. En cambio, la fracción menos abundante correspondió a la de los ácidos fenólicos libres (Fig. 4).

Solo una pequeña cantidad de ácidos fenólicos se localiza en forma libre, la mayoría de estos compuestos se encuentran unidos mediante enlaces ésteres o éteres a otros compuestos como antocianinas (co-pigmentación) u otras moléculas orgánicas como glucosa o ácidos quínico, málico y tartárico, o bien a otros productos naturales como terpenos (Marques y Farah, 2009). La unión entre antocianinas se denomina autoasociación, mientras que, con otros, como los compuestos fenólicos,

copigmentación intramolecular (Mejía *et al.*, 2023). La asociación intramolecular en el caso de las antocianinas se favorece por un mayor grado de glicosilación y acilación (Maciel *et al.*, 2018). La estructura y grupos funcionales de estos compuestos permiten una interacción y enlaces con otras macromoléculas presentes en los tejidos vegetales, mejorando su estabilidad y funciones biológicas propias del tejido del que proceden (Maciel *et al.*, 2018; Babenko *et al.*, 2019).

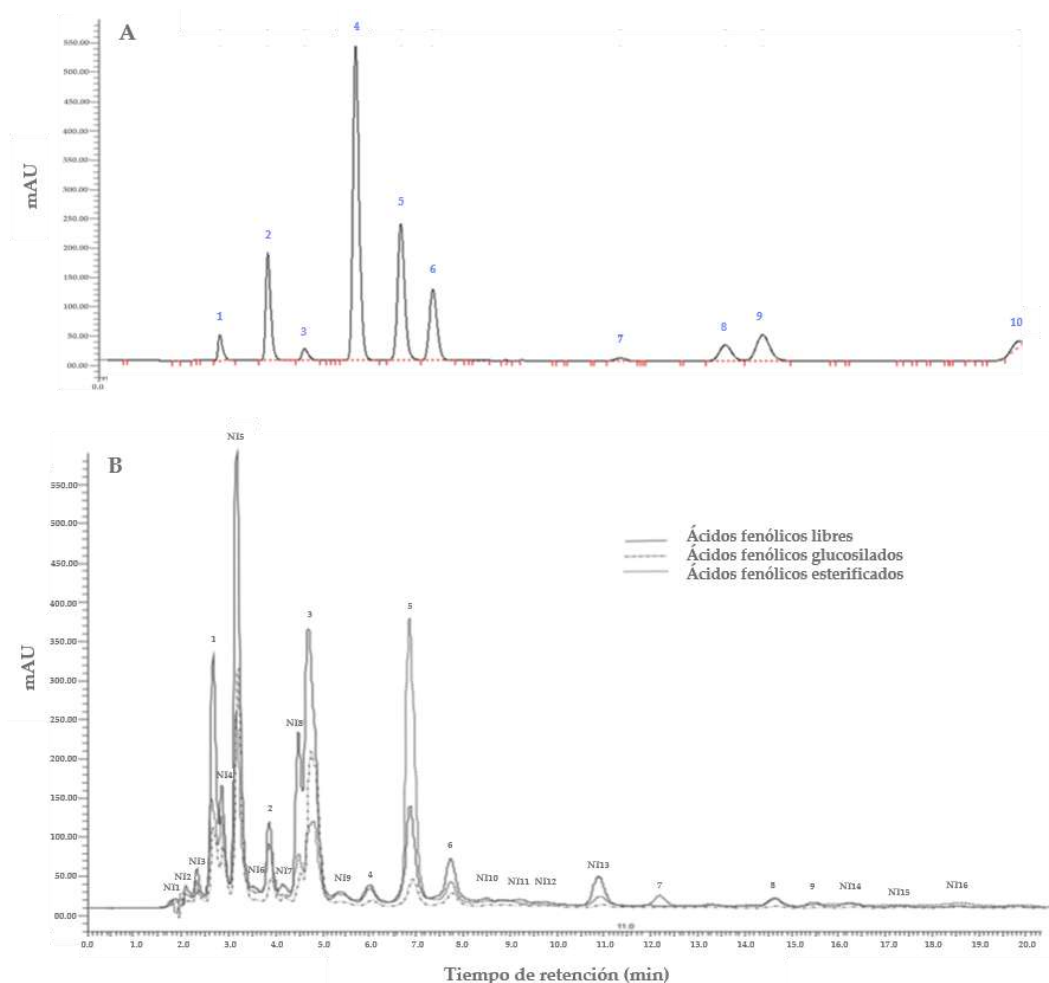


Figura 3. Cromatograma de estándares de ácidos fenólicos a 254 nm (A) y de las fracciones de ácidos fenólicos de los cálices de la variedad de jamaica de China (B). La identidad de los picos es: 1= Gálico, 2= Protocatecuico, 3= Clorogénico, 4= *p*-Hidroxibenzoico, 5= Vanílico y Caféico, 6= Siringico, 7= *p*-Cumárico, 8= Ferúlico, 9= Salicílico y 10= Sinápico.

Figure 3. Chromatogram of phenolic acid standards at 254 nm (A) and phenolic acid fractions from the Chinese hibiscus variety calyces (B). The peak identities are: 1= Gallic, 2= Protocatechuic, 3= Chlorogenic, 4= *p*-Hydroxybenzoic, 5= Vanillic and Caffeic, 6= Syringic, 7= *p*-Coumaric, 8= Ferulic, 9= Salicylic, and 10= Sinapic.

La suma de estos tres tipos de ácidos fenólicos representa el contenido total de ácidos fenólicos solubles en los extractos y fue mayor en el extracto de jamaica China, con una concentración de $11977.3 \pm 76.4 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de muestra, seguido del extracto de jamaica de Nayarit con $9259.3 \pm 35.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de muestra, y finalmente el extracto de Guerrero, con una concentración de $7713.5 \pm 37.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de muestra. Valores similares fueron informados por Reyes-Luengas *et al.* (2015) para variedades de jamaica con cálices de diferentes colores. Si no se realiza el fraccionamiento de ácidos fenólicos, los valores reportados son menores. Li *et al.* (2024) reportaron valores entre 4500 y 7230 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en cálices de jamaica de diferentes orígenes.

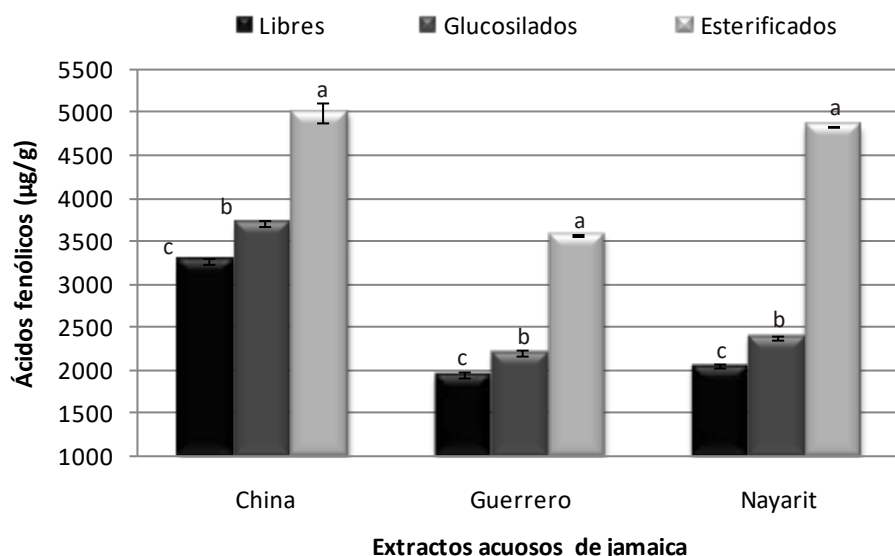


Figura 4. Contenido de las fracciones de ácidos fenólicos presentes en tres muestras de extractos de cálices de jamaica.

Figure 4. Content of phenolic acid fractions present in three samples of hibiscus calyx extracts.

Se separaron 25 diferentes compuestos de los cuales se identificaron 10 ácidos fenólicos, con el apoyo de los tiempos de retención de los estándares y sus respectivos espectros en UV (Tabla 2). Entre los picos no identificados (NI) abundaron compuestos con espectros en UV similares a varios de los ácidos fenólicos reportados en extractos acuosos de cálices de jamaica, como son los ácidos: gálico, protocatecuico, clorogénico, p-cumárico, y salicílico (Reyes-Luengas *et al.*, 2015) por lo cual se asocia la presencia de estos compuestos en el extracto. En el trabajo de Li *et al.* (2024) se señala la presencia de diferentes isómeros y derivados de los principales ácidos fenólicos de los cálices de jamaica.

Tabla 2. Identificación de ácidos fenólicos mediante uso de estándares comerciales, tiempos de retención y espectros UV, en extractos acuosos de jamaica China.**Table 2.** Identification of phenolic acids of commercial standards, retention times, and UV spectra in aqueous extracts of Chinese hibiscus.

No. Pico	Ácidos fenólicos	$\lambda_{\max}$ (nm)	Tiempos de retención (min)				Espectro similar a
			Estándares	FL	FG	FE	
NI1				1.87	1.86	1.78	Á. gálico
NI2				2.15	2	2.02	Á. gálico
NI3				2.32	2.29	2.3	Á. gálico
1	Gálico	272.9	2.73	2.66	2.63	2.64	
NI4				2.85	2.85	2.85	Á. gálico
NI5				3.16	3.16	3.18	Á.protocatecuico
NI6				3.52	3.54	3.64	Á.protocatecuico
2	Protocatecuico	259.7	3.88	3.85	3.85	3.87	
NI7				4.14	4.15	4.2	Á. clorogénico
NI8				4.47	4.49	4.49	Á. clorogénico
3	Clorogénico	330.1	4.77	4.68	4.71	4.81	
NI9				5.37	5.39	5.34	Á. clorogénico
4	<i>p</i> -Hidroxibenzoico	255	5.99	6	6.01	6.01	
5	Vanílico	260.9	7.07	6.85	6.87	6.87	
5	Caféico	327.1	7.07	6.85	6.87	6.87	
6	Sirínico	273.7	7.84	7.72	7.72	7.74	
NI10				8.43	8.84	8.81	Á. <i>p</i> -cumárico
NI11				9.15	9.18	9.6	Á. <i>p</i> -cumárico
NI12				13.34	9.85	10.21	Á. <i>p</i> -cumárico
NI13				10.86	10.91	10.92	Á.protocatecuico
7	<i>p</i> -Cumárico	310.1	12.33	12.41	12.35	12.18	
NI14				16.26	16.17	13.26	Á. <i>p</i> -cumárico
8	Ferúlico	323.8	14.85	14.63	14.64	14.64	
9	Salicílico	303.2	15.75	15.43	15.81	15.9	
NI15				17.32	17.3	17.06	Á. salicílico
NI16				18.52	18.58		Á. salicílico

$\lambda_{\max}$: Máximo de absorción; FL: Compuestos fenólicos libres; FG: Compuestos fenólicos glucosilados; FE: Compuestos fenólicos esterificados.

El contenido de ácidos fenólicos en cada una de las fracciones analizadas en los extractos acuosos de jamaica se muestra en la Tabla 3. En las tres fracciones de ácidos fenólicos los ácidos más abundantes fueron clorogénico y cafeico, en tanto que los de menor presencia fueron los ácidos *p*-hidroxibenzoico y ferúlico. El ácido vanílico se encontró en todas las fracciones de la jamaica China, pero no en las fracciones de ácidos fenólicos libres y glucosilados de las jamaicas de Guerrero y Nayarit. Aunque en esta última jamaica si se observó en la fracción de ácidos esterificados.

Tabla 3. Contenido de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados ($\mu\text{g/g}$) en los extractos de cálices de tres variedades de jamaica.**Table 3.** Content of free, glycosylated, and esterified phenolic acids ($\mu\text{g/g}$) in extracts of calyces from three hibiscus varieties.

Fenoles	G		P		Cl		<i>p</i> -H		V		Ca		Si		<i>p</i> -C		F		Sa	
Libres																				
China	281.2	a	155.1	a	1309.4	a	10.6	a	825.3	412.6	a	93.1	a	45.7	b	24.2	a	112.1	a	
Guerrero	329.2	a	88.7	c	1069.8	b	9.8	a	ND	198.2	c	75.0	b	84.0	a	11.2	b	78.1	b	
Nayarit	188.2	b	133.6	b	1319.8	a	2.4	b	ND	236.2	b	60.6	c	53.0	b	3.5	c	45.5	c	
Glucosilados																				
China	362.5	a	158.3	a	1883.7	a	10.1	a	928.4	243.1	a	41.2	a	32.9	c	1.0	a	48.8	b	
Guerrero	228.8	b	86.9	c	1517.1	c	4.1	b	ND	194.3	b	38.8	a	73.1	a	1.1	a	60.1	a	
Nayarit	164.6	c	117.3	b	1779.2	b	1.5	c	ND	206.7	b	38.4	a	42.9	b	0.0	b	23.6	c	
Esterificados																				
China	462.2	a	183.5	a	1245.8	b	16.1	a	664.7	2101.0	a	75.5	c	108.1	a	40.6	b	100.4	a	
Guerrero	388.3	b	131.4	c	1221.0	b	13.3	b	ND	1459.0	c	119.9	a	76.6	b	54.1	a	101.9	a	
Nayarit	259.1	c	156.4	b	1493.9	a	14.0	b	834.4	1825.1	b	110.3	b	82.0	b	20.9	c	46.5	b	

Los valores son medias expresadas en $\mu\text{g/g}$ de muestra seca. Letras iguales en la misma columna y fracción no son significativamente diferentes ($P < 0.05$). **G:** Gálico; **P:** Protocatecuico; **Cl:** Clorogénico; **p-H:** p-Hidroxibenzoico; **V:** Vanílico; **Ca:** Cafeico; **Si:** Sirínico; **p-C:** p-Cumárico; **F:** Ferúlico; **Sa:** Salicílico. **ND:** no detectado.

El ácido clorogénico se encontró mayormente en forma glucosilada y esterificada, que concuerda con otras investigaciones que señalan este compuesto como un ácido fenólico, altamente presente en los extractos vegetales (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2024). En el extracto acuoso de jamaica China, este ácido representó 37.1 % del total, en el de Guerrero 49.4 % y en el de Nayarit 49.6 %, en relación con cada una de sus respectivas muestras. El contenido de ácido clorogénico al sumar las tres fracciones reportó 4,438.9 $\mu\text{g/g}$, que es un valor inferior al informado por Debelo *et al.* (2023), en cálices de jamaica (9354.0 $\mu\text{g/g}$). La diferencia se puede atribuir a la variedad de jamaica utilizada en cada caso y al método de extracción aplicado. Debelo *et al.* (2023) emplearon muestra molida, metanol acidificado como solvente y sonicaron la muestra, factores que favorecen considerablemente la extracción de los compuestos fenólicos. La importancia de este ácido radica en que presenta efectos de actividad biológica importante, entre los que se encuentran: actividad antiinflamatoria, antioxidante, así como efectos en los procesos metabólicos de lípidos y glucosa (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2024).

Los porcentajes relativos de ácido caféico encontrados en las muestras fueron de 24.5 % en el extracto de jamaica de Nayarit, 24.0 % en el de Guerrero y 23 % en el de China. Estos valores son similares al 19.9 % reportado por Yang *et al.* (2010). El elevado contenido de ácido cafeico en la fracción de fenoles esterificados podría provenir de la hidrólisis del enlace éster de este ácido, con el ácido quínico, que constituye el ácido clorogénico. Lo que no queda claro es por qué no se hidrolizó todo el ácido clorogénico de la fracción de ácidos fenólicos esterificada con el tratamiento de álcali aplicado.

Otro ácido fenólico que se encontró en cantidad importante fue vanílico, que en el extracto de jamaica China representó 20.2 % del total de ácidos fenólicos encontrados en las tres fracciones, en el extracto

de Nayarit solo se detectó en la fracción de ácidos esterificados. Sin embargo, este ácido fenólico contribuyó con el 9 % de la concentración total de estos compuestos en su extracto. En el extracto de Guerrero no se detectó. El ácido vanílico bajo el protocolo de análisis por HPLC aplicado en el presente estudio, co-eluye con el ácido cafeico, por lo que su cuantificación se dificulta. Su presencia en cantidades moderadas (102-208 $\mu\text{g/g}$) se ha reportado en extractos tanto acuosos como metanólicos de cálices de jamaica (Yagi *et al.*, 2023).

Otros ácidos presentes en los extractos de jamaica analizados fueron: gálico (6.6 a 12.3 %), *p*-hidroxibenzoico (0.2 a 0.4 %), siríngico (1.8 a 3.0 %), ferúlico (0.3 a 0.9 %) y salicílico (1.2 a 3.1 %). Huang *et al.* (2009), mencionan como ácido predominante en la jamaica al protocatecuico (23.2 %). Sin embargo, el porcentaje promedio de este ácido en los extractos acuosos de jamaica analizados fue de 4.2 %, encontrándose en mayor proporción en el extracto de jamaica de Nayarit (4.4 %).

En los cromatogramas de ácidos fenólicos solubles (libres, glucosilados y esterificados) se observó un compuesto con tiempo de retención de 3.12 min, que es muy cercano al del estándar de ácido protocatecuico (3.85 min), pero con un espectro en UV ligeramente diferente (Fig. 5, obtenido con el detector UV/vis con arreglo de diodos), por lo que es posible que se trate de un derivado de este ácido. El porcentaje relativo de este compuesto ($\text{Tr}=3.12$ min) en las tres fracciones de ácidos fenólicos analizados fue mayor que el del ácido clorogénico, particularmente en la fracción de ácidos libres.

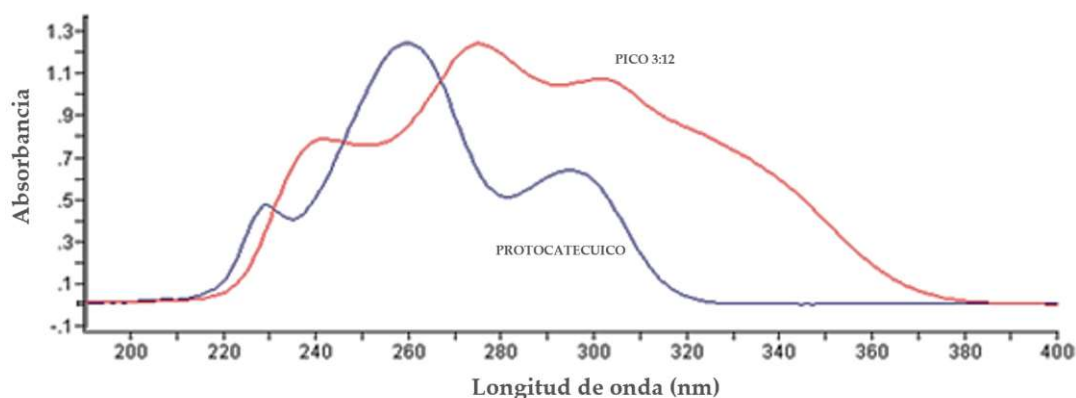


Figura 5. Espectro en UV del ácido protocatecuico y del compuesto con tiempo de retención de 3.12 min observado en el extracto acuoso de cálices de la variedad de jamaica China.

Figure 5. UV spectrum of protocatechuic acid and the compound with a retention time of 3.12 min observed in the aqueous extract of calyces from the Chinese hibiscus variety.

3.4 Capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de extractos de jamaica

La Fig. 6 presenta el comportamiento de la capacidad antioxidante (CA) de los diferentes extractos de jamaica. En la Fig. 6A se muestran los resultados de esta variable para los extractos diluidos en proporciones 1:1 con agua, a partir del extracto original. La Fig. 6B ilustra los resultados obtenidos cuando los extractos se estandarizaron a una concentración de antocianinas (100 $\mu\text{g/mL}$). En el primer caso (Fig. 6A) se apreció que el extracto de jamaica China, presentó 89.6 % de capacidad antioxidante del DPPH en 15 min y en 30 min la reducción alcanzó 91.0 %.

El extracto de jamaica de Nayarit redujo 84.1 % del DPPH en 15 min, e incrementó a 90.7 % en 30 min. El extracto de Guerrero redujo en 15 min 79.7 % del DPPH y llegó a 88.0 % a los 30 min. Después de 30 min no se percibieron cambios significativos en la reducción del DPPH por los extractos, la reducción final de DPPH a los 60 min de los extractos de jamaica China y Nayarit fue similar (91.0 y 90.7 % respectivamente), lo que hace suponer que otros compuestos además de las antocianinas y ácidos fenólicos contribuyen en la CA de este extracto. El extracto de Guerrero fue el que logró menor reducción del DPPH al final de la prueba (88.2 % del DPPH en 60 min), atribuido posiblemente a sus bajos niveles de antocianinas y ácidos fenólicos.

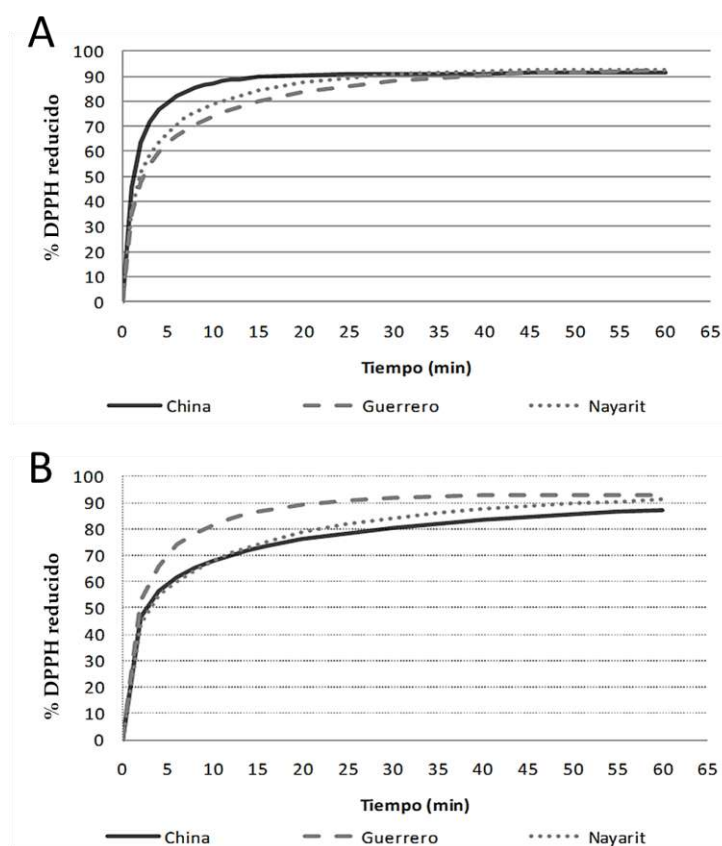


Figura 6. Capacidad antioxidante de extractos de jamaica diluidos 1:1 con agua destilada a partir de la concentración original del extracto (A) y extractos ajustados a una concentración estandarizada de antocianinas (B).

Figura 6. Antioxidant capacity of hibiscus extracts diluted 1:1 with distilled water from the original extract concentration (A) and extracts adjusted to a standardized anthocyanin concentration (B).

De acuerdo con los resultados obtenidos, mayor concentración de antocianinas y ácidos fenólicos implica mayor velocidad en la reducción del DPPH por los extractos.

En el segundo ensayo (Fig. 6B), el extracto de jamaica China presentó la capacidad antioxidante más baja, posiblemente como resultado de la dilución por el ajuste de la concentración de antocianinas,

el extracto redujo 72.8 % del DPPH en 15 min, 80.5 % en 30 min y en 60 min un 87.2 %. Por otra parte, los extractos de jamaicas nacionales tuvieron una dilución menor para ajustar la cantidad de antocianinas debido a su bajo contenido de estos pigmentos, lo que permitió que el resto de los constituyentes del extracto se diluyeran en menor proporción que en la jamaica China. El extracto de jamaica de Nayarit alcanzó 74.5 % de reducción del radical DPPH en 15 min, 84.3 % en 30 min y 91.2 % en 60 min, mientras el extracto de jamaica de Guerrero presentó mayor capacidad antioxidante que los extractos de China y Nayarit, ya que redujo 86.7 % del radical en 15 min, a los 30 alcanzó 91.9 % y a los 60 min la reducción fue de 93.0 %.

De acuerdo con lo informado por Yagi *et al.* (2023), cuando se evalúa la CA mediante el método de DPPH, el ácido clorogénico y flavonoides del tipo kaemferol tienen una elevada participación, incluso mayor que las antocianinas características de la jamaica, lo que podría explicar porque la jamaica China, al estandarizar los extractos por contenido de antocianinas, mostró menor CA que las otras dos jamaicas, con contenidos moderados de estos flavonoides.

La composición fitoquímica de los cálices de jamaica es amplia y diversa, y sin duda la presencia de otros compuestos distintos a antocianinas contribuye a su CA. Compuestos fenólicos como el epigallocatequin-galato, catequina, epigallocatequina, quercetina, kaemferol, ácido hidroxícitrico y β -caroteno, presentes en los cálices de jamaica, poseen una destacada capacidad antioxidante (Riaz y Chopra, 2018).

4. Conclusiones

La extracción acuosa presentó menor recuperación de compuestos bioactivos en comparación con la extracción metanólica. Independientemente del procedimiento de extracción aplicado, la jamaica China contiene mayor cantidad de ácidos fenólicos y antocianinas que las jamaicas nacionales, y todas las jamaicas analizadas mostraron el mismo perfil de antocianinas. La fracción más abundante de compuestos fenólicos en los extractos acuosos fue la de ácidos fenólicos esterificados, con los ácidos clorogénico y cafeico como los principales; el primero abundó en la fracción de fenoles glucosilados, mientras que el segundo en el de esterificados. Adicionalmente, la capacidad antioxidante de los extractos estuvo ligada con su contenido de antocianinas y ácidos fenólicos. Sin embargo, otros compuestos diferentes a estos flavonoides coloridos presentes en los cálices, poseen capacidad antioxidante relevante. A pesar de su alto contenido de antocianinas, los extractos de la jamaica China presentaron menor capacidad antioxidante al estandarizar su concentración con base en estos flavonoides.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés para la publicación de estos resultados.

Nomenclatura

CA: Capacidad antioxidante.

AE: Acetato de etilo.

AF: Ácidos fenólicos.
ANOVA: Análisis de varianza.
Ca: Caféico.
CAT: Contenido de antocianinas.
Cl: Clorogénico
DPPH: 2,2-difenil-1-picrihidrazilo.
F: Ferúlico.
FE: Compuestos fenólicos esterificados.
FG: Compuestos fenólicos glucosilados.
FL: Compuestos fenólicos libres.
G: Gálico.
HCl: Ácido clorhídrico.
HPLC (siglas en ingles): Cromatografía líquida de alta resolución.
mg ECG/kg MS: Miligramos equivalentes de cianidina 3-glucósido por kg de muestra seca.
N: Solución Normal.
NaOH: Hidróxido de sodio.
ND: No detectado.
NI: Picos no identificados.
nm: Nanómetro.
P: Protocatecuico.
p-C: *p*-Cumárico.
p-H: *p*-Hidroxibenzoico.
Sa: Salicílico.
Si: Siríngico.
TFA: Ácido trifluoroacético.
UV/Vis: Espectroscopia ultravioleta-visible.
v/v/v: Relación volumen volumen volumen.
V: Vanílico.
 λ_{max} : Máximo de absorción.

5. Referencias

- Abou-Arab, A. A., Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. A. (2011). Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*). *Journal of American Science* 7(7): 445-456. <http://www.americanscience.org/>
- Alañón, M. E., Ivanović, M., Pimentel-Mora, S., Borrás-Linares, I., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). A novel sustainable approach for the extraction of value-added compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by natural deep eutectic solvents. *Food Research International*, 137: 109646. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109646>
- Amaya-Cruz, D., Pérez-Ramírez, I. F., Pérez-Jiménez, J., Nava, G. M., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Comparison of the bioactive potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx and its by-product: Phenolic characterization by UPLC-QTOF MSE and their anti-obesity effect in vivo. *Food Research International*, 126: 108589. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108589>

- Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K., & Kosakivska, I. V. (2019). Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. *Ukr. Biochem. J*, 91(3): 5-18. <https://doi.org/10.15407/ubj91.03.005>
- Bakan, B., Bily, A. C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogène, B. J., & Richard-Molard, D. (2003). Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of agricultural food chemistry*, 51(9): 2826-2831. <https://doi.org/10.1021/jf020957g>
- Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. In: Markakis P, editor. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press. p. 1–40. <https://www.sciencedirect.com/reference/160959>
- Carvajal-Zarrabal, O., Barradas-Dermitz, D. M., Orta-Flores, Z., Hayward-Jones, P. M., Nolasco-Hipólito, C., Aguilar-Uscanga, M. G., Miranda-Medina, A., & Bujang, K. B. (2012). *Hibiscus sabdariffa* L., roselle calyx, from ethnobotany to pharmacology. *Journal of experimental pharmacology*, 4: 25-39. <https://doi.org/10.2147/JEP.S27974>
- Cassol, L., Rodrigues, E., & Zapata-Noreña, C. P. (2019). Extracting phenolic compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx using microwave assisted extraction. *Industrial crops products*, 133: 168-179. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.023>
- Chisomo-Chatepa, L. E., Masamba, K. G., Sanudi, T., Ngwira, A., Tanganyika, J., & Chamera, F. (2023). Effects of aqueous and methanolic solvent systems on phytochemical and antioxidant extraction from two varieties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) var. sabdariffa plant from Central Malawi. *Food and Humanity*, 1: 1172-1179. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.09.006>
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. (2015). Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. *Journal of Food Science Technology*, 52(11): 6859-6869. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-1800-9>
- Debelo, H., Fiecke, C., Terekhov, A., Reuhs, B., Hamaker, B., & Ferruzzi, M. G. (2023). Compositional analysis of phytochemicals and polysaccharides from Senegalese plant ingredients: *Adansonia digitata* (baobab), *Moringa oleifera* (moringa) and *Hibiscus sabdariffa* (hibiscus). *NFS Journal*, 32: 100144. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2023.100144>
- Escobar-Ortiz, A., Castaño-Tostado, E., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., & Reynoso-Camacho, R. (2021). Anthocyanins extraction from *Hibiscus sabdariffa* and identification of phenolic compounds associated with their stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1): 110-119. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10620>
- Enaru, B., Drețcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12): 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Fossen, T., Slimestad, R., & Andersen, Ø. M. (2001). Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5): 2318-2321. <https://doi.org/10.1021/jf001399d>
- Galicia-Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2): 121-129. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911556003>

- Głowniak, K., Zgórk, G., & Kozyra, M. (1996). Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some *Echinacea* species. *Journal of Chromatography A*, 730(1-2): 25-29. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00877-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00877-2)
- Huang, C.-N., Chan, K.-C., Lin, W.-T., Su, S.-L., Wang, C.-J., & Peng, C.-H. (2009). *Hibiscus sabdariffa* Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration Induced by High Glucose – A Mechanism Involves Connective Tissue Growth Factor Signals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(8): 3073-3079. <https://doi.org/10.1021/jf803911n>
- Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., & Williamson, G. (2018). Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and α -glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, 261: 164-168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.052>
- Li, N., Simon, J. E., & Wu, Q. (2024). Determination of anthocyanins, organic acids and phenolic acids in hibiscus market products using LC/UV/MS. *Journal of Food Science*, 89(2): 1098-1113. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16909>
- Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., ... & Rosso, N. D. (2018). *Hibiscus sabdariffa* anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, 113: 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.053>
- Mejía, J. J., Sierra, L. J., Ceballos, J. G., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2023). Color, antioxidant capacity and flavonoid composition in *Hibiscus rosa-sinensis* cultivars. *Molecules*, 28(4): 1779. <https://doi.org/10.3390/molecules28041779>
- Marques, V., & Farah, A. (2009). Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*, 113(4): 1370-1376. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086>
- Morales-Cabrera, M., Hernández-Morales, J., Leyva-Rúelas, G., Salinas-Moreno, Y., Soto-Rojas, L., & Castro-Rosas, J. (2013). Influence of variety and extraction solvent on antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyxes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(31): 2319-2322. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.1242>
- Piovesana, A., & Zapata-Noreña, C. P. (2019). Study of acidified aqueous extraction of phenolic compounds from . calyxes. *The Open Food Science Journal*, 11: 25-34. <https://benthamopenarchives.com/abstract.php?ArticleCode=TOFSJ-11-25>
- Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry*, 100(2): 433-438. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.063>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Reyes-Luengas, A., Salinas-Moreno, Y., Ovando-Cruz, M. E., Arteaga-Garibay, R. I., & Martínez-Peña, M. D. (2015). Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos. *Agrociencia*, 49(3): 277-290. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238027004>
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102: 575-586. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>

- Şahin, S., Pekel, A. G., & Toprakçı, İ. (2020). Sonication-assisted extraction of *Hibiscus sabdariffa* for the polyphenols recovery: application of a specially designed deep eutectic solvent. *Biomass Conversion Biorefinery*, 12: 4959–4969. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00837-4>
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Rubio-Hernández, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43(9): 483-487. <https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>
- Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Jiménez-De la Torre, L. B., Serrano-Altamirano, V., & Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 18(3): 395-407. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60926213012>
- Segura-Carretero, A., Puertas-Mejía, M. A., Cortacero-Ramírez, S., Beltrán, R., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Dinelli, G., & Fernández-Gutiérrez, A. (2008). Selective extraction, separation, and identification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. using solid phase extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry (time-of-flight/ion trap). *Electrophoresis*, 29(13): 2852-2861. <https://doi.org/10.1002/elps.200700819>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.) *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A., Vo, D.-V. N., & Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4): 3409-3443. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8>
- Sukwattanasinit, T., Burana-Osot, J., & Sotanaphun, U. (2007). Spectrophotometric method for quantitative determination of total anthocyanins and quality characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Planta medica*, 73(14): 1517-1522. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990262>
- Yagi, S., Uba, A. I., Sinan, K. I., Piatti, D., Sagratini, G., Eltigani, S. M., Caprioli, G., Lazarova, I., & Zengin, G. (2023). Comparative Study on the Chemical Profile, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibition Capacity of Red and White *Hibiscus sabdariffa* Variety Calyces. *ACS Omega*, 8(45): 42511-42521. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05217>
- Yang, M.-Y., Peng, C.-H., Chan, K.-C., Yang, Y.-S., Huang, C.-N., & Wang, C.-J. (2010). The hypolipidemic effect of *Hibiscus sabdariffa* polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance. *Journal of agricultural food chemistry*, 58(2): 850-859. <https://doi.org/10.1021/jf903209w>
- Zhang, W., Lin, M., Jia, D., Zhang, Q., Zhang, D., Gu, Y., Peng, Q., & Zheng, S. (2024). Inhibition of TNF- α /IFN- γ -induced inflammation in HaCaT Cell by roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extractions. *Food Bioscience*, 60: 104432. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104432>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Physicochemical and functional properties of yogurt enriched with ultrafiltered juice of Red Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*) as a functional ingredient

Propiedades fisicoquímicas y funcionales de yogurt enriquecido con jugo ultrafiltrado de tuna roja (*Opuntia ficus-indica*) como ingrediente funcional

Alondra Valadez-Pineda¹, Gerardo Méndez-Zamora¹, Nydia Vásquez-Aguilar¹, Luisaldo Sandate Flores², Carlos Alberto Hernández-Martínez¹ and Sugey R. Sinagawa- García^{1*}

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, UANL. Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, General Escobedo, Nuevo León, México. C.P. 66050

² Tecnológico Nacional de México/ITS de Rioverde. Carretera Rioverde-San Ciro Km 4.5, Rioverde, San Luis Potosí

*Correspondencia: sugey.sinagawagr@uanl.edu.mx (Sugey R. Sinagawa-García)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1614>

Recibido: 16 de agosto de 2024; Aceptado: 13 de noviembre de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Armando Quintero-Ramos

Abstract

Yogurt has long been recognized as a health-promoting food for its bioavailability of protein, energy, probiotics and calcium, increasing digestibility, as well as preventing potential diseases beyond basic nutritional function. Recently, yogurt has become one of those foods whose functional properties are developed by adding functional substances with a potential positive effect on health. The objective was to evaluate the effect of ultrafiltered juice of red fruits of *O. ficus-indica* as a functional ingredient in yogurt. A completely randomized block design (CRBD) was used. The treatments were: yogurt with 0 % ultrafiltered red prickly pear juice (Y0) as a control; yogurt with 10 % ultrafiltered red prickly pear juice (Y1); yogurt with 20 % ultrafiltered red prickly pear (Y2); and yogurt with 30 % ultrafiltered red prickly pear juice (Y3). The variables to measure in each yogurt treatment were pH during lactic fermentation and the final product, syneresis, energy content, colorimetry, composition (total solids, protein, fat and ash), antioxidant activity (DPPH, ABTS and FRAP), phenol content and sensory evaluation. The incorporation of red prickly pear ultrafiltrates accelerated antioxidant activity and total phenolic contents. Finally, the sensory panel satisfactorily accepted the incorporation of red prickly pear ultrafiltered in yogurt.

Keywords: ultrafiltered, yogurt, antioxidant activity, phenolic content, sensory panel.

Resumen

El yogurt ha sido reconocido desde hace mucho tiempo como un alimento que promueve la salud por su biodisponibilidad de proteínas, energía, probióticos y calcio, aumentando la digestibilidad, además de prevenir enfermedades potenciales más allá de la función nutricional básica. Recientemente, el yogurt se ha convertido en uno de los alimentos cuyas propiedades funcionales se desarrollan mediante la adición de sustancias funcionales con un efecto potencial positivo en la salud. El objetivo fue evaluar el efecto de jugo ultrafiltrado de frutos rojos de *O. ficus-indica* como ingrediente funcional en yogurt. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA). Los tratamientos fueron: yogurt control 0 % jugo ultrafiltrado de tuna roja (Y0); yogurt con 10 % de jugo ultrafiltrado de tuna roja (Y1); yogurt con 20 % de jugo ultrafiltrado de tuna roja (Y2); y yogurt con 30 % de jugo ultrafiltrado de tuna roja (Y3). Las variables para medir en los tratamientos de yogurt fueron pH durante la fermentación láctica y en el producto final, sinéresis, contenido energético, colorimetría, composición (sólidos totales, proteína, grasa y ceniza), actividad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP), contenido de fenoles y evaluación sensorial. La incorporación de ultrafiltrados de tuna roja aceleró la fermentación del yogurt además se incrementó la sinéresis, el contenido de energía y pH. Los ultrafiltrados de tuna roja en yogurt aumentaron la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales. Finalmente, el panel sensorial aceptó satisfactoriamente la incorporación de ultrafiltrados de tuna roja en yogurt.

Palabras clave: ultrafiltrado, yogurt, actividad antioxidante, contenido fenólico, panel sensorial.

1. Introduction

Nowadays, the consumption of functional foods is in high demand because consumers consider that their health is linked with the foods they ingest (Dinkçi *et al.*, 2021). Foods or ingredients classified as functional foods resemble traditional ones but may have the potential to provide additional health benefits beyond the standard nutrient content, and should be incorporated as part of a normal diet for consumption in a local setting or specific culture (Shori *et al.*, 2022). Functional foods require new bioactive ingredients which can be used by the food industry (Faustino *et al.*, 2019). In the past years, studies about horticultural crops have revealed that these products have important functions in human health due to high levels of active biological compounds (Settar Unal *et al.*, 2022).

Cacti are a group species that live in arid areas; México hosts 518 species out of which 47.7 % are endemic (Martínez *et al.*, 2021). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill (Cactaceae) is a plant considered as functional food for its nutritional benefits on human health due to its high content of antioxidant compounds in its cladodes, flowers and fruits (Ayala *et al.*, 2021). The fruits of *O. ficus-indica* are berry-like and are known as “tunas” in Mexico, they contain flavonoids, phenolic acids, betalains, ascorbic acid, fatty acids, lignans and sterols (Martínez *et al.*, 2021). Betalains are derived from betalamic acid and are divided into two structural subgroups: betacyanines and betaxanthines. These compounds are extracted commercially from beetroot and are utilized commonly in the food industry as a color additive in many types of foods, such as dairy products, candies, soft drinks and some emulsified meat products (Bassama *et al.*, 2020). Many studies have investigated the properties

and interactions of the pigments of prickly pear (betalains), for example, characterizing and quantifying betalains and phenolic compounds (Gómez-Maqueo *et al.*, 2020); evaluating the antioxidant potential, antiinflammatory and anti hyperglucemic activity of the extracts of *O. ficus-indica* (Gómez-Maqueo *et al.*, 2019); and studying the potential of semi-processed juices from *O. ficus-indica* as a natural antimicrobial against Gram-negative and Gram-positive food pathogenic bacteria (Palmeri *et al.*, 2020).

According to the latest studies, the use of numerous additives, fruits or bioactive compounds of plant origin in the production of yogurt has a significant improvement in its quality and benefits such as antioxidant properties (Cenobio *et al.*, 2019; Tavakoli *et al.*, 2019; Won-Young *et al.*, 2020). Yogurt is classified as a functional food and it is one of the most consumed dairy products (Jeong *et al.*, 2018). It is produced by the coagulation of proteins during fermentation with lactic acid bacteria such as *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* under defined time and temperature (Kim *et al.*, 2019; Cho *et al.*, 2020). These bacteria ferment lactose, producing lactic acid, carbon dioxide, acetic acid, dactyls, acetaldehyde and other components that give yogurt its characteristic, flavor and smell; and they must be viable and abundant in the final product (Shori *et al.*, 2022). Yogurt is a source of bioactive compounds that are formed during lactic fermentation and has a limited content of antioxidant activity. For this reason, the production of yogurt enriched with antioxidants from natural sources is of considerable interest and presents a novel approach for product development (Dabija *et al.*, 2018). In summary, yogurt and red prickly pear are both functional foods that, when combined, may have physicochemical and functional properties that are beneficial to human health. Therefore, the objective is to evaluate the effect of ultrafiltered juice of red fruits of *O. ficus-indica* as a functional ingredient in yogurt.

2. Materials and methods

2.1 Materials

For the yogurt production, commercially available ultra-pasteurized milk, sugar, bacterial cultures, and ultrafiltered juice from red prickly pear (*O. ficus-indica*) were used, as shown in Table 1.

Table 1. Yogurt treatments with ultrafiltered red prickly pear juice (*O. ficus-indica*) as a functional ingredient.

Tabla 1. Tratamientos del yogurt con jugo ultrafiltrado de tuna roja (*O. ficus-indica*) como ingrediente funcional.

Ingredient (%) [†]	Treatment [‡]			
	Y0	Y1	Y2	Y3
Ultrasteurized milk	90.90	90.49	90.08	89.68
Saccharose	9.09	9.05	9.01	8.97
Bacteria cultures	0.01	0.01	0.01	0.01
PUJ <i>O. ficus-indica</i>	0.00	0.45	0.90	1.35

[†]PUJ: Pasteurized ultrafiltered juice. [‡] Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red prickly pear juice.

2.2 Methods

2.2.1 Yogurt processing

The elaborate process of yogurt formulation (Table 1) was done following the Karnopp method *et al.*, (2017) with some modifications. Saccharose was added to the ultra pasteurized milk and the mixture was heated to 42 °C. At this temperature, the freeze-dried bacterial cultures and pasteurized ultrafiltrate of red prickly pear juice were added to each treatment. The mixture was then incubated at 42 °C for 6 h. Subsequently, the products were cooled to 7 °C and kept at that temperature for 12 h for the analysis of the variables. The commercial ultra-pasteurized milk used in the experiment was composed of 33.1 % total solids, 3.1 % protein, 2.9 % fat and 0.6 % ash.

2.2.2 Physicochemical analysis

The pH of the yogurt samples was measured with a potentiometer (EcoSense pH1000A, YSI, Ohio, USA) during fermentation and in final products.

Yogurt syneresis was performed according to the method of Jeong *et al.* (2018). Samples of 10 g of yogurt were analyzed, which were centrifuged at 600 × g for 6 min at 4 °C. The supernatant (serum) obtained was weighed, and the syneresis was expressed as a percentage weight of the serum separated from the initial sample (Kim *et.al.*, 2020) using the following Eq. (1):

$$\text{Syneresis (\%)} = \left[\frac{\text{separated serum (g)}}{\text{initial sample weight (g)}} \right] \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Gross energy was determined using an adiabatic bomb calorimeter (Bomb Calorimeter, Parr Instrument, Illinois, USA), using petroleum ether as the combustion reagent.

2.2.3 Colorimetry

The color was determined by the values of CIE L* (0 = black; 100 = white), CIE a* (- green; + red), CIE b* (- blue; + yellow), Chroma (C* = intensity of the color) and Hue angle (hue), with a colorimeter (CR 410, Konica Minolta, Japan). Furthermore, the color difference (ΔE) between the color of the samples (L2) compared to the control (L1), was calculated according to Dinkçi *et al.* (2021) with the following Eq. (2):

$$\Delta E = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \quad \text{Eq. (2)}$$

2.2.4 Proximal composition

The total solids content was determined according to the method 930.15 (AOAC, 2005) by gravimetric determination of the moisture loss of the sample dried for 3 h in an oven (Yamato Scientific America Inc. Constant Temperature Oven, Japan) at 103 °C. The percentage of ash according to the method 942.05 (AOAC, 2005) was considered as the residue after incineration of the samples at 550 °C in a muffle (Thermo Scientific, Waltham, MA) for 4 h. The percentage of protein was determined by the Kjeldahl method described by Wijesekara *et al.*, (2022). In a digestion block, the samples were digested at 400 °C with sulfuric acid and catalyst (3 % CuSO₄, 97 % K₂SO₄). Subsequently, the samples were subjected to a Kjeldahl distiller with NaOH to distill the nitrogen from the combustion, which once obtained was titrated with hydrochloric acid (0.1 N). The results obtained were the quantification of total nitrogen in the samples, and through a conversion factor.

Fat quantification by method 920.39 (AOAC, 2005) consisted of quantifying the ether extract obtained by extracting triacylglycerides from the samples, using ether in an adiabatic calorimetric fat extractor (Parr Instrument, USA).

2.2.5 Preparation of yogurt-water extracts

The preparation of the yogurt-water extracts was done according to the method of Shori *et al.* (2022). A total of 40 g of each yogurt sample was homogenized with 10 mL of dH₂O. The pH of the samples had to be 4.0, then the samples were incubated in a water bath at 45 °C for 10 min. The samples were centrifuged at 5000 rpm at 4 °C for 10 min, and the supernatant was adjusted to pH 7.0 using NaOH (0.1 M). A second centrifugation was carried out (5000 rpm, 4 °C, 10 min) and the clear supernatant was used for subsequent analyses: DPPH, ABTS⁺, FRAP and phenolic content.

2.2.6 Antioxidant activity

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay was based on what was proposed by Jeong *et al.*, (2018) with some modifications. The DPPH solution was dissolved in 80 % methanol, then the reagent was diluted 1:10 to an absorbance of 0.700 at 515 nm. The previously prepared yogurt-water extract (25 µL) was mixed with the DPPH solution (975 µL), and incubated in the dark at room temperature for 30 min. A mixture of 25 µL of ethanol and 975 µL of DPPH solution was used as a control. The antioxidant activity was calculated in accordance with Jeong *et al.* (2018) as Eq. (3):

$$AA \text{ for DPPH} \bullet (\%) = \left[1 - \left(\frac{Abs_{sample}}{Abs_{control}} \right) \right] \times 100\% \quad \text{Eq. (3)}$$

The ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) assay was performed based on Jeong *et al.*, (2018) with modifications. The ABTS reagent (14.8 mM) was mixed with 5 mM potassium sulfate, and the sample was incubated in the dark at room temperature for 16 hours. The working solution (ABTS) was diluted with dH₂O to an absorbance of 0.700 ± 0.05 at 734 before use. The yogurt-

water extract samples (10 µL) were mixed with 1 mL of ABTS solution and incubated in the dark at room temperature for 15 min. The percentage of antioxidant activity was calculated according to Jeong *et al.* (2018) in the following Eq. (4):

$$AA \text{ por ABTS (\%)} = \left[1 - \left(\frac{Abs_{sample}}{Abs_{control}} \right) \right] \times 100\% \quad \text{Eq. (4)}$$

The methodology for FRAP was performed according to Schneider *et al.*, (2022) with some modifications. The solution was prepared by mixing acetate buffer (300 mM, pH 3.6) with 10 mM TPTZ solution (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) in 40 mM HCl and 20 mM FeCl₃, in a ratio of 10: 1:1 (v/v/v). The mixture of solutions was heated to 37 °C and 25 µL of diluted sample (1/5) or Trolox standard solution was added to 1 mL of FRAP solution. The absorbance was measured at 593 nm, after 30 min. The equation curve was based on Trolox concentrations between 0 and 1200 µM, and the results were expressed in µmol TE/L.

The Folin-Ciocalteu method (Wijesekara *et al.*, 2022) with some modifications was used to quantify the total phenolic content in the yogurt-water extracts. The analysis was based on a nine-point calibration curve from 0 to 0.032 mg/mL with intervals of 0.004 mg/mL gallic acid. The absorbance was measured at 760 nm before use. The results were expressed in gallic acid equivalents (mg AG/L).

2.2.7 Sensory evaluation

The sensory evaluation was carried out based on Shori (2020) with some modifications. The yogurt samples were evaluated on day 1 of storage. Sample preparation consisted of placing 20 g of each treatment in plastic containers, assigning them a random three-digit number. The panel consisted of 40 people (were students and professors, all yogurt consumers) and was divided into two sections. In the first section, 20 panelists evaluated the four treatments of replica one, while the other 20 assessed the same treatments in replica two. This way, the evaluation was conducted in replicates, ensuring that no different treatments were used, which allowed for more consistent and comparable results. The evaluation was carried out with a 5-point hedonic scale (5= I like it a lot, 4= I like it, 3= I neither like it nor dislike it, 2= I dislike it, 1= I dislike it very much), for the five attributes: color (presence of pink), milky odor, flavor, viscosity and overall acceptability.

2.2.8 Statistical analysis

The variables analyzed in the filtered, retained and pasteurized samples were considered as a treatment effect (T_i) to test the hypothesis H₀ (equality of treatments - no effect on the variables); this analysis was based on the general linear model " $y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$ " where " y_{ij} " refers to the study variable, " μ " refers to the global mean, " T_i " refers to the effect of the i treatment and " e_{ij} " is the experimental error.

In the yogurt experiment, a factorial design was first carried out to test the hypothesis (H₀) about the difference in pH between the treatments (T_i) in relation to the time of lactic fermentation: $y_{ij} = \mu + \tau_i + t_j +$

$(\tau i)_{ij(k)} + \beta + e_{ij}$; y_{ij} = study variable (pH); μ = overall mean; T_i = effect of the i th treatment; t_j = effect of the j th fermentation time; $(Ti)_{ij(k)}$ = effect of the treatment-fermentation time interaction; B = block effect; e_{ij} = experimental error.

In the treatments (T_i) of the final yogurt product, the hypothesis H_0 was tested based on: $y_{ij} = \mu + \tau i + \beta j + e_{ij}$; y_{ij} = study variable; μ = overall mean; T_i = effect of the i th treatment; B_j = effect of the i th block; e_{ij} = experimental error.

A value less than 0.05 (P-Value) was the criterion to reject H_0 . The rejected variables were evaluated by a comparison of means (Tukey). Minitab® 17.1.0 (2013) software was used for data analysis.

Measurements of the colorimetry, pH and soluble solids variables were carried out seven times. Meanwhile, measurements of pH variables during lactic fermentation, antioxidant activity, betalains, phenolic content, total sugars, reducing sugars, proximal composition and water retention capacity were carried out in triplicate.

3. Results and discussion

3.1 Lactic fermentation

During lactic fermentation, the interaction of treatments and time showed no effect ($P > 0.05$) for pH. Thus, the behavior of pH over hours is shown in Table 2. The pH was different ($P < 0.05$) between the treatments at 0, 2 and 6 h. The yogurt with the highest content (Y3) of ultrafiltrates showed lower pH at hours 0 and 2, given that the pH of the pasteurized ultrafiltrate was 4.57.

Table 2. pH behavior during yogurt fermentation

Tabla 2. Comportamiento del pH durante la fermentación del yogurt

Treatment [†]	Time (h)			
	0	2	4	6
Y0	6.568 ^a	6.013 ^a	4.637	4.117 ^a
Y1	6.490 ^a	5.913 ^b	4.487	4.062 ^b
Y2	6.382 ^b	5.868 ^b	4.502	4.053 ^b
Y3	6.295 ^b	5.783 ^c	4.583	4.092 ^{ab}
SEM	0.034	0.102	0.056	0.028
P-Value	0.000	0.000	0.059	0.044

[†] Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red prickly pear juice. SEM: standard error of the mean. a-c Means in columns with different letters differ statistically ($P < 0.05$).

Similar results were reported by Jeong *et al.* (2018), who used green tea powder in the yogurt formulation, where the pH was lower. Those authors indicated that the addition of phenolic compounds and organic acids can improve the metabolic activity of lactic acid bacteria in yogurt, leading to faster acidity of milk and, therefore, a shortening of fermentation times.

3.2 Physicochemical properties

Table 3 reports the physicochemical properties of the yogurt, such as pH, syneresis and energy. These properties showed a difference ($P > 0.05$) between yogurt samples. Y0 presented the lowest syneresis value, and Y3 the highest energy value.

Table 3. Physicochemical properties of yogurt with ultrafiltered red prickly pear juice.

Tabla 3. Propiedades físicoquímicas del yogurt con jugo ultrafiltrado de tuna roja.

Variables	Treatment [†]				SEM [‡]	P-Value
	Y0	Y1	Y2	Y3		
pH	4.01 ^a	3.99 ^{ab}	3.97 ^b	4.01 ^a	0.01	0.047
Syneresis %	60.73 ^c	65.50 ^b	68.56 ^{ab}	71.36 ^a	1.09	0.000
Energy (Kcal/kg)	4285.50 ^b	4164.50 ^{bc}	4061.00 ^c	4567.50 ^a	19.10	0.001

[†] Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red prickly pear juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red prickly pear juice. [‡] SEM: standard error of the mean. ^{a-c} Means in rows with different letters differ statistically ($P < 0.05$).

The pigmentation of betalains is most stable in a pH range of 3 to 7, with betacyanins being more resistant to acidic conditions and betaxanthins being more stable at neutral pH (Schneider *et al.*, 2022). The addition of red prickly pear ultrafiltrates differed in pH value, Y0 and Y3 presented the highest value. The results obtained present more acidic values compared to previous research in which leaf extracts were added; For example, the addition of aqueous extracts of herbs in yogurt presented pH of 4.62 to 4.36 on day 1 of storage (Dabija *et al.*, 2018), and the addition of lotus leaf powder showed values of 4.39 and control of 4.49 (Da-Hee *et al.*, 2019).

Syneresis values differed significantly between treatments ($P < 0.05$). Y0 presented the lowest percentage in terms of serum release compared to treatments added with red prickly pear ultrafiltrates. Similar results were obtained by Wijesekara *et al.*, (2022), who added aqueous natural colorants to yogurt after fermentation, compared to this study in which the ultrafiltrates were added before fermentation, so adding the aqueous extracts before or after fermentation generates the same effect in the release of serum. T

The variation in the energy content of yogurt is due to the interpretation of the carbohydrate, protein and fat contents in the formulations (Ahmed *et al.*, 2023). Y3 presented the highest energy content, followed by Y0, Y1 and Y2. However, it would have been expected that the higher the concentration

of red tuna ultrafiltrate, the higher the energy content, but this was not the case for Y2, perhaps due to variations in the formulation.

3.3 Colorimetry

The color parameters evaluated in yogurt showed significant differences (Table 4). L*, b* and hue (Hue angle) decreased as the amount of ultrafiltrates added increased, while a* and saturation (Chroma) increased.

Table 4. Colorimetry in yogurt with ultrafiltered red prickly pear juice.

Tabla 4. Colorimetría en yogurt con jugos ultrafiltrados de tuna roja.

Colorimetry [†]	Treatment [‡]				SEM [§]	P-Value
	Y0	Y1	Y2	Y3		
L*	93.81 ^a	79.63 ^b	73.51 ^c	69.66 ^d	0.91	0.000
a*	-2.72 ^c	18.68 ^b	25.59 ^a	29.46 ^a	1.24	0.000
b*	9.41 ^a	3.89 ^b	2.98 ^b	2.87 ^b	0.44	0.000
Chroma	9.79 ^c	19.22 ^b	25.86 ^a	29.7 ^a	1.09	0.000
Hue Angle	106.20 ^a	13.53 ^b	7.86 ^c	6.66 ^c	0.99	0.000
ΔE	Ref	19.55 ^c	27.45 ^b	32.19 ^a	0.11	0.000

[†] a*: red coordinates; b*: yellow coordinates; L*: luminosity; ΔE: color difference, Y0 as reference. [‡] Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red tuna juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red tuna juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red tuna juice. [§] SEM: standard error of the mean. ^{a-d} Means in rows with different letters differ statistically (P<0.05).

Cenobio *et al.* (2019) reported that L* increases in proportion to the concentration of the purple *O. ficus-indica* betalain emulsion. Also, the value of a* increases, since the emulsions tend to color red because of the presence of betalains. Parameter b* increases during the shelf life of the yogurt. In the results obtained, a* increased when adding 20 and 30 % of red tuna ultrafiltrates.

Various types of acids and their quantities cause different effects on the color of betalains (Guneser, 2021); an example is lactic acid produced during milk fermentation. Guneser (2021) described a relationship: as the shelf life of yogurt enriched with beet extract progressed, the lactic acid content, pH, and the value of L* and b* increased, while the value of a* decreased. In this case, the pH value decreased as the percentage of ultrafiltered red tuna juice increased and the a* value increased, so the use of betalains from red tuna is more stable at acidic pH, by obtaining greater pigmentation in red coordinates.

In addition, Guneser (2021) reported a significant positive correlation between Chroma values and betalain content. A similar effect occurred in the treatments, Chroma and a* increased as the

percentage of ultrafiltrates increased. The color difference between the samples results when $3.5 < \Delta E < 5.0$ (Schneider *et al.*, 2022), in treatments Y1, Y2 and Y3 the value was greater than 5.0.

3.4 Proximal composition

The results of the proximal composition such as total solids, fat and ash did not present significant differences ($P > 0.05$), but the levels of proteins differed significantly ($P < 0.05$) between treatments, with Y2 and Y3 having lower content (Table 5).

Table 5. Proximal composition of yogurt with ultrafiltrates of red prickly pear juice.

Tabla 5. Composición proximal en yogurt con ultrafiltrados de tuna roja.

Composition (%)	Treatment [†]				SEM [‡]	P-Value
	Y0	Y1	Y2	Y3		
Total solids	19.15	18.25	17.50	16.85	0.541	0.173
Raw protein	2.15 ^{ab}	2.50 ^a	1.75 ^b	1.65 ^b	0.075	0.011
Raw fat	0.90	1.10	1.10	0.65	0.125	0.201
Ash	0.65	0.60	0.60	0.55	0.029	0.292

[†] Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red tuna juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red tuna juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red tuna juice. [‡]SEM: standard error of the mean. a-b Means in rows with different letters differ statistically ($P < 0.05$).

The chemical composition of yogurt depends on the composition of the milk, the presence of additives and processes (Guneser, 2021). The fat and protein values of the four yogurt treatments are within the range established by NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018, since the minimum percentage of protein must be at least 1.60 and the maximum percentage of butterfat must be 7.0. Although the percentage of protein decreased in the yogurt treatments as the amount of ultrafiltrates increased.

Guneser (2021) reported 13.13 g/100 g of dry matter, 3.01 g/100 g of fat, 2.50 g/100 g of protein and 0.85 g/100 g of ash, in yogurt with cow's milk. In the results obtained from Y0, Y1, Y2 and Y3, the fat, protein and ash contents were lower.

3.5 Antioxidant activity and total phenolic content

The antioxidant activity and total phenolic content are shown in Table 6. The ultrafiltrates increased the results obtained from DPPH, ABTS, FRAP and total phenolic content in Y1, Y2 and Y3, with Y3 presenting the highest values.

Table 6. Antioxidant activity and total phenolic content in yogurt with ultrafiltrates of *O. ficus-indica* red variety.
Table 6. Actividad antioxidante y contenido de fenólicos totales en yogurt con ultrafiltrados de *O. ficus-indica* variedad roja.

Variable [†]	Treatment [†]				SEM [§]	P-Value
	Y0	Y1	Y2	Y3		
DPPH• %	2.69 ^c	15.86 ^b	27.02 ^a	33.21 ^a	1.97	0.000
ABTS•+ %	15.50 ^d	19.25 ^c	22.91 ^b	28.34 ^a	0.75	0.000
FRAP (μmol TE/L)	0.167 ^c	0.239 ^b	0.310 ^{ab}	0.356 ^a	0.018	0.000
CFT (mg AG/L)	22.74 ^c	34.69 ^b	39.68 ^{ab}	44.61 ^a	2.15	0.000

[†] TE: Trolox equivalents; TPC: Total phenolic content; FA: gallic acid. [†]Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10% ultrafiltered red tuna juice; Y2: yogurt with 20% ultrafiltered red tuna juice; Y3: yogurt with 30% ultrafiltered red tuna juice. [§] SEM: standard error of the mean. a-d Means in rows with different letters differ statistically (P<0.05).

The antioxidant activity reported by different methodologies such as DPPH, ABTS and FRAP, as well as the total phenolic content showed a similar behavior between the treatments, given that the antioxidant activity is correlated with the phenolic content (Dabija *et al.*, 2018); because as the percentage of red tuna ultrafiltrates increased in the treatments, the percentage of radical inhibition by DPPH, ABTS, and the content of μmol TE/L in FRAP increased, and in turn, the content of total phenols increased, with Y3 reporting the highest results.

In yogurt enriched with microencapsulated fruits of purple *O. ficus-indica*, similar results were obtained to those reported in the DPPH and ABTS assay (Cenobio-Galindo *et al.*, 2019).

Schneider *et al.* (2022) mentioned that the betacyanin-rich fraction has a higher antioxidant activity and phenolic content than the betaxanthin-rich fraction. The ultrafiltered red tuna juice added to the different yogurt treatments presented a higher content of betacyanins (93.74 mg/L) than betaxanthins (39.18 mg/L), resulting in the increase in antioxidant activity and CFT in Y1, Y2 and Y3.

3.6 Sensorial evaluation

Table 7 shows the results obtained from the sensory evaluation of yogurt. The evaluation was conducted in replicates, using the same treatments, which allowed for data grouping. The pink color and flavor showed significant differences (P<0.05) between the treatments, as well as the milky odor, viscosity and overall acceptability (AG).

Table 7. Sensorial evaluation of yogurt with ultrafiltrates of *O. ficus-indica* juice red variety.
Tabla 7. Evaluación sensorial en yogurt con ultrafiltrados de *O. ficus-indica* variedad roja.

Treatment [†]	Pink color	Milky odor	Flavor	Viscosity	OA
Y0	1.750 ^c	4.000 ^a	4.250 ^a	4.000 ^a	4.000 ^a
Y1	4.000 ^{ab}	4.000 ^a	3.750 ^b	4.000 ^a	4.000 ^a

Y2	4.250 ^a	4.000 ^a	4.000 ^{ab}	4.000 ^a	4.000 ^a
Y3	4.000 ^{ab}	4.000 ^a	4.000 ^{ab}	4.000 ^a	4.000 ^a
P-Value	0.000	0.084	0.009	0.430	0.399

⁺ Y0: control yogurt; Y1: yogurt with 10 % ultrafiltered red tuna juice; Y2: yogurt with 20 % ultrafiltered red tuna juice; Y3: yogurt with 30 % ultrafiltered red tuna juice. OA: Overall acceptability. ^{a-b} Means in columns with different letters differ statistically ($P < 0.05$).

The yogurt treatments enriched with ultrafiltered red tuna juice (Y1, Y2, and Y3) received sensory scores similar to those of the control yogurt (Y0), without any negative effects. Wijesekara *et al.* (2022) reported that the use of natural pigments in yogurt production does not negatively impact sensory perception. However, in this study, the inclusion of red tuna ultrafiltrates resulted in a noticeable pink color and a distinct flavor profile. While Y0 did not exhibit pink pigmentation and was the panelists' accepted treatment in terms of flavor, Y2 and Y3 were also well-received, though their flavor scores were slightly lower than Y0.

4. Conclusions

The incorporation of red tuna ultrafiltrates into yogurt resulted in several significant effects on its properties. First, there was an acceleration in the yogurt fermentation process. Additionally, the inclusion of these ultrafiltrates increased syneresis, energy content, and pH, particularly in the Y3 sample. However, a decrease in L^* , b^* , and Hue angle values was also observed, indicating a noticeable color difference compared to yogurt without additives (Y0). Furthermore, the addition of ultrafiltrates reduced protein content in the Y2 and Y3 yogurt variants. From a health perspective, the presence of red tuna ultrafiltrates significantly boosted antioxidant activity (measured through the DPPH, ABTS, and FRAP methods) and increased total phenolic content. A sensory panel evaluated the yogurt with the ultrafiltrates positively, suggesting favorable consumer acceptance. This sensory evaluation was conducted on a pilot scale, so future research should include a larger group of consumers to obtain more reproducible and reliable results. The treatments containing 20% and 30% ultrafiltered tuna juice were the best-rated percentages by the panelists. Ultrafiltered red tuna appears to be a beneficial addition to yogurt, enhancing certain nutritional and functional aspects, though it also brings changes to the yogurt's physical and protein properties that warrant further consideration. Further large-scale studies involving a more substantial number of sensory panelists are recommended to gain more robust and representative data on consumer acceptance. Additionally, investigating the product's stability during storage—evaluating whether the antioxidant benefits and changes in physical properties are maintained over time—along with determining the product's shelf life under commercial conditions, would provide valuable insights.

Acknowledgments

Many thanks to Saba Yasin MSc for his thorough review and insightful editing of this manuscript, greatly enhancing its quality.

Author's contribution

Conceptualization, S.R.S.G. and L.S.F.; Methodology, A.V.P. and N.C.V.A.; Software, G.M.Z.; Validation, S.R.S.G., G.M.Z., and L.S.F.; Formal analysis, A.V.P. and G.M.Z.; Research, A.V.P., G.M.Z., and L.S.F.; Resources, C.A.H.M.; Writing-revising and editing, G.M.Z. and L.S.F.; Visualization, C.A.H.M.; Supervision, S.R.S.G.; Project management, S.R.S.G.; Fundraising, S.R.S.G., A.V.P., L.S.F., and G.M.Z.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this manuscript.

Nomenclature

ABTS•+	2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
DPPH•	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma

Greek symbols

y_{ij}	Study variable
μ	Overall mean
T_i	Effect of the i th treatment
t_j	Effect of the j th fermentation time
$(Ti)_{ij(k)}$	Effect of the treatment-fermentation time interaction
B	Block effect
B_j	Effect of the i th block
e_{ij}	Experimental error

5. References

Ahmed, M.W., Khan, M.S.I., Parven, A., Rashid, M.H., & Meftaul, I.M. (2023). Vitamin-A enriched yogurt through fortification of pumpkin (*Cucurbita maxima*): A potential alternative for

- preventing blindness in children. *J. Heliyon* 9(4): e15039. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15039>
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005
- Ayala-Niño, A., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Sánchez-Franco, J. A., Ariza-Ortega, J. A., Calderón-Ramos, Z. G., & Delgado-Olivares, L. (2022). Antioxidant properties of a thermoultrasonicated cactus pear [*Opuntia ficus indica* (L.) Mill, (Cactaceae)] blend juice in comparison with traditional thermal processing, *Emirates Journal of Food and Agriculture* 33(12). <https://doi.org/10.9755/ejfa.2021.v33.i12.2791>
- Bassama, J., Tamba, A., Ndong, M., Sarr, K.D.D., & Cissé, M. (2021). Degradation Kinetics of Betacyanins during the Pasteurization and Storage of Cactus Pear (*Opuntia dillenii* Haw.) Juice Using the Arrhenius, Eyring, and Ball Models. *Beverages*. 7(1): 2. <https://doi.org/10.3390/beverages7010002>
- Cenobio-Galindo, A.J., Díaz-Monroy, G., Medina-Pérez, G., Franco-Fernández, M.J., Ludeña-Urquizo, F.E., Vieyra-Alberto, R., & Campos-Montiel, R.G. (2019). Multiple Emulsions with Extracts of Cactus Pear Added in A Yogurt: Antioxidant Activity, In Vitro Simulated Digestion and Shelf Life. *Foods* 8(10): 429. <https://doi.org/10.3390/foods8100429>
- Cho, W. Y., Kim, D. H., Lee, H. J., Yeon, S. J., & Lee, C. H. (2020). Quality characteristic and antioxidant activity of yogurt containing olive leaf hot water extract. *CyTA-Journal of Food* 18(1): 43-50. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1640797>
- Dabija, A., Codină, G.G., Ropciuc, S., Gâtlan, A.M., & Rusu, L. (2018). Assessment of the Antioxidant Activity and Quality Attributes of Yogurt Enhanced with Wild Herbs Extracts. *Journal of Food Quality* 2018 Special Issue. <https://doi.org/10.1155/2018/5329386>
- Dinkçi, N., Aktaş, M., Akdeniz, V., & Sirbu, A. (2021). The Influence of Hazelnut Skin Addition on Quality Properties and Antioxidant Activity of Functional Yogurt. *Foods* 10(11):2855. <https://doi.org/10.3390/foods10112855>
- Faustino, M., Veiga, M., Sousa, P., Costa, E.M., Silva, S., & Pintado, M. (2019). Agro-Food Byproducts as a New Source of Natural Food Additives. *Molecules* 24(6): 1056. <https://doi.org/10.3390/molecules24061056>
- Gómez-Maqueo, A., Antunes-Ricardo, M., Welte-Chanes, J., & Cano, M.P. (2020). Digestive Stability and Bioaccessibility of Antioxidants in Prickly Pear Fruits from the Canary Islands: Healthy Foods and Ingredients. *Antioxidants* 9(2): 164. <https://doi.org/10.3390/antiox9020164>
- Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., Fernández-López, R., Welte-Chanes, J., & Cano, M.P. (2019). Inhibitory potential of prickly pears and their isolated bioactives against digestive enzymes linked to type 2 diabetes and inflammatory response. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 99(14): 6380-6391. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9917>
- Guneser, O. (2021). Kinetic Modelling of Betalain Stability and Color Changes in Yogurt During Storage. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 71(2): 135-145. <https://doi.org/10.31883/pjfn/134393>
- Jeong, C.H., Ryu, H., Zhang, T., Lee, C.H., Seo, H.G., & Han, S.G. (2018). Green tea powder supplementation enhances fermentation and antioxidant activity of set-type yogurt. *Food Science and Biotechnology* 27(5):1419-1427. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0370-9>
- Karnopp, A.R., Oliveira, K.G., de Andrade, E.F., Postinger, B.M., & Granato, D. (2017). Optimization of an organic yogurt based on sensorial, nutritional, and functional perspectives. *Food Chemistry* 233: 401-411. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.112>
- Kim, D.H., Cho, W.Y., Yeon, S.J., Choi, S.H., Lee, C.H. (2019). Effects of Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaf on Quality and Antioxidant Activity of Yogurt during Refrigerated Storage. *Food Science of Animal Resources* 39(5): 792-803. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e69>

- Kim, S.Y., Hyeonbin, O., Lee, P., & Kim, Y.S. (2020). The quality characteristics, antioxidant activity, and sensory evaluation of reduced-fat yogurt and nonfat yogurt supplemented with basil seed gum as a fat substitute. *Journal of Dairy Science* 103(2): 1324-1336. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17117>
- Martínez, E.M.M., Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Rostro-Alanis, M., Parra-Arroyo, L., Antunes-Ricardo, M., Serna-Saldívar, S.O., Iqbal, H.M.N., & Parra-Saldívar, R. (2021). Underutilized Mexican Plants: Screening of Antioxidant and Antiproliferative Properties of Mexican Cactus Fruit Juices. *Plants* 10(2): 368. <https://doi.org/10.3390/plants10020368>
- Palmeri, R., Parafati, L., Arena, E., Grassenio, E., Restuccia, C., & Fallico, B. (2020). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Semi-Processed Frozen Prickly Pear Juice as Affected by Cultivar and Harvest Time. *Foods* 9(2): 235. <https://doi.org/10.3390/foods9020235>
- Schneider-Teixeira, A., Molina-García, A.D., Alvarez, I., Staffolo, M.D., & Deladino, L. (2022). Application of betacyanins pigments from *Alternanthera brasiliana* as yogurt colorant. *LWT* 159: 113237. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113237>
- Settar Unal, M., Gundesli, M.A., Ercisli, S.; Kupe, M., Assouguem, A., Ullah, R., Almeer, R., Najda, A. (2022). Cultivar Differences on Nutraceuticals of Grape Juices and Seeds. *Horticulturae* 8(3):267. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030267>
- Shori, A.B. (2020). Inclusion of phenolic compounds from different medicinal plants to increase α -amylase inhibition activity and antioxidants in yogurt. *Journal of Taibah University for Science* 14(1): 1000-1008. <https://doi.org/10.1080/16583655.2020.1798072>
- Shori, A.B., Aljohani, G.S., Al-zahrani, A.J., Al-sulbi, O.S., & Baba, A.S. (2022). Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. *LWT* 153: 112482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112482>
- Tavakoli, M., Habibi Najafi, M.B., & Mohebbi, M. (2019). Effect of the milk fat content and starter culture selection on proteolysis and antioxidant activity of probiotic yogurt. *Heliyon* 5(2): e01204. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01204>
- Wijesekara, A., Weerasingha, V., Jayarathna, S., & Priyashantha, H. (2022). Quality parameters of natural phenolics and its impact on physicochemical, microbiological, and sensory quality attributes of probiotic stirred yogurt during the storage. *Food Chemistry: X* 14: 100332. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100332>

2024 TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Evaluación y caracterización fisicoquímica, nutracéutica, microbiológica y sensorial de una bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales

Evaluation and physicochemical, nutraceutical, microbiological and sensory characterization of a beverage formulated from agroindustrial by-products

Cynthia Torres-Alvarez¹, Guadalupe Gutiérrez-Soto¹, Marco Antonio Almaraz-Juárez¹, Guillermo Niño-Medina¹ Sandra Castillo², Pablo Alan Rodríguez-Salinas^{1*}

¹ Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Francisco Villa s/n, Ex-Hacienda "El Canadá", General Escobedo NL C.P. 66050, México

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza NL C.P. 66455, México.

*Correspondencia: prodriguez@uanl.edu.mx (Pablo Alan Rodríguez-Salinas)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1678>

Recibido: 27 de septiembre de 2024; Aceptado: 27 de diciembre de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Miguel Ángel Sánchez-Madrigal

Resumen

En la actualidad, la agroindustria del queso y juguera producen subproductos como el lactosuero y bagazo de naranja que son desechados y desperdiciados ocasionando contaminación ambiental. Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación fue desarrollar una bebida, a partir del lactosuero y bagazo de naranja. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, densidad y °Brix), la calidad nutracéutica (compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, DPPH y ABTS), composición química (proteína, grasa, fibra), calidad microbiológica (mesófilos aerobios, coliformes, bacterias acidolácticas, bacterias psicrófilas, hongos y levaduras), propiedades reológicas y calidad sensorial durante su almacenamiento. Los resultados obtenidos de densidad (1.05 g mL^{-1}), °Brix (13.6), pH (4.8) y acidez (0.79 g L^{-1}), microbiológicos y viscosidad se mantuvieron constantes. Los valores obtenidos en la composición química se mostraron en porcentajes bajos; el contenido promedio de compuestos fenólicos totales ($2611.46 \text{ mg EAG L}^{-1}$), capacidad antioxidante DPPH ($573.59 \text{ } \mu\text{mol ET L}^{-1}$) y ABTS ($5288.78 \text{ } \mu\text{mol ET L}^{-1}$) disminuyeron durante el almacenamiento. Asimismo, la bebida en cuanto a color, sabor, olor, textura y apariencia obtuvo una aceptabilidad

sensorial media. El suero dulce de leche y el subproducto del jugo de naranja pueden ser aprovechados como materias primas económicas para desarrollar nuevos productos alimenticios.

Palabras clave: bebida, bagazo de naranja, lactosuero.

Abstract

Currently, the cheese and juice agribusiness produce by-products such as whey and orange bagasse that are discarded and wasted, causing environmental pollution. Due to the above, the objective of this research was to develop a drink from sweet whey and orange bagasse. Physicochemical parameters (pH, acidity, density and °Brix), nutraceutical quality (total phenolic compounds, total flavonoids, DPPH and ABTS), chemical composition (protein, fat, fiber), microbiological quality (aerobic mesophiles, coliforms, lactic acid bacteria, psychrophilic bacteria, fungi and yeasts) rheological properties and sensory quality were evaluated. The results obtained of density (1.05 g mL^{-1}), °Brix (13.6), pH (4.8) and acidity (0.79 g L^{-1}), microbiological and viscosity remained constant; the values obtained in the chemical composition were shown in low percentages. The average content of total phenols ($2611.46 \text{ mg EAG L}^{-1}$), antioxidant capacity DPPH ($573.59 \text{ } \mu\text{mol ET L}^{-1}$) and ABTS ($5288.78 \text{ } \mu\text{mol ET L}^{-1}$) decreased during storage. Likewise, the beverage in terms of color, flavor, smell, texture and appearance obtained a medium sensory acceptability. Sweet whey and the byproduct of orange juice can be used as economic raw materials to develop new food products.

Keywords: beverage, orange bagasse, whey.

1. Introducción

Los productos derivados de la leche de vaca son considerados una fuente importante de nutrientes en poblaciones con acceso limitado a proteínas de origen animal (Parra Huertas, 2009; FAO, 2023). Sin embargo, en la agroindustria del queso, el lactosuero es el principal subproducto del proceso de transformación de la leche en queso, que generalmente se desecha debido al alto costo o falta de tecnología de los productores para concentrarlo y realizar extracción de los valiosos nutrientes como proteínas, lactosa, lípidos y minerales. La producción de queso requiere en promedio 10 litros de leche para producir 1 kg de queso, por lo que el lactosuero puede llegar a representar poco más del 90 % de subproducto en la industria del queso, además de que puede representar hasta el 55 % de los nutrientes originales de la leche. Adicionalmente, podría utilizarse como fuente de nutrientes o materia prima económica para producir otros alimentos con alto valor nutricional (Parra Huertas, 2009; Yadav *et al.*, 2015).

Otra agroindustria que genera muchos subproductos es la juguera, siendo la naranja (*Citrus sinensis*) uno de los frutos con más popularidad en los últimos años, se considera como una excelente fuente de fitoquímicos con capacidad antioxidante. Sin embargo, después de la extracción del jugo se generan alrededor de 45-60 % de subproductos, que son desechados y desaprovechados como fuentes de nutrientes (Fernández-López *et al.*, 2009). Actualmente, la producción anual de naranja en el mundo supera los 86 millones de toneladas (Favela-Hernández *et al.*, 2016), mientras que en México se producen cada año cerca de 4 millones de toneladas. Además, la naranja posee vitamina C, carbohidratos, minerales, fibra, compuestos fenólicos (ácido gálico, ferúlico, cafeico y flavonoides)

y carotenoides (Fernández-López *et al.*, 2009; Favela-Hernández *et al.*, 2016; Chavan *et al.*, 2018). Algunos estudios mencionan del aprovechamiento de los subproductos de la naranja como fuente de nutrientes en la alimentación animal, extracción de pectina para su uso como aditivo alimenticio, extracción de aceite esencial y producción de bioetanol (Chavan *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2018a), pero pocos estudios reportan el uso de subproductos de naranja en fórmulas como ingrediente o aditivo alimenticio funcional y nutraceutico (Kumar *et al.*, 2017).

El subproducto (cáscara y bagazo) de la naranja por su alto contenido de fibra y fitoquímicos podría ser aprovechado como ingrediente benéfico con la finalidad de desarrollar nuevos y variados productos con efecto benéfico en el cuerpo humano con propiedades antioxidantes que ayuden a prevenir enfermedades degenerativas como cáncer, mejorar la microbiota intestinal, reducir enfermedades intestinales, prevenir la obesidad, cáncer de colon y diabetes (Fernández-López *et al.*, 2009; Favela-Hernández *et al.*, 2016; Pacheco *et al.*, 2018b). Debido al interés de mejorar la calidad de los alimentos con ingredientes de origen vegetal que puedan provocar efectos benéficos en el cuerpo, mejorar la salud humana y disminuir los daños ocasionados al medio ambiente por los subproductos generados por la agroindustria, se planteó la hipótesis: una bebida formulada a partir de suero dulce de leche y bagazo de naranja mantendrá sus características fisicoquímicas y nutraceuticas durante su almacenamiento.

Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue formular una bebida a partir de subproductos agroindustriales (lactosuero y bagazo de naranja) y evaluar su calidad fisicoquímica, nutraceutica, microbiológica y reológica durante 21 días, así como su composición química y propiedades sensoriales al día 1 de su realización. En la actualidad, no existen productos comerciales que utilicen el lactosuero como ingrediente principal. Este componente lácteo solo se encuentra en formato de polvo, siendo parte como ingrediente de ciertos suplementos alimenticios. Asimismo, la harina de bagazo de naranja no forma parte de productos disponible en el mercado. Estos ingredientes podrían ser utilizados para desarrollar productos más saludables por sus propiedades nutricionales. Además, su aprovechamiento contribuiría a una producción más sostenible, promoviendo una economía circular en la industria alimentaria.

2. Materiales y métodos

2.1 Preparación de la harina de bagazo de naranja

Naranjas (*Citrus sinensis* L.) de la variedad Valencia fueron utilizadas en este estudio, las cuales fueron obtenidas de la zona citrícola de Nuevo León. Las naranjas fueron lavadas y desinfectadas y posteriormente se extrajo el jugo con un exprimidor mecánico. El bagazo de naranja (residuo de la extracción de jugo), está compuesto principalmente por cáscara, membranas y semillas. Posteriormente, el bagazo se secó mediante la metodología descrita por Durán-Mendoza (2018), con modificaciones. Se precalentó la estufa a 60 °C, se introdujo el bagazo en un recipiente y se mantuvo por 24 h, hasta peso constante. El bagazo seco fue pulverizado en un procesador de alimentos por 30 s y se tamizó a malla 40. El polvo obtenido se almacenó en bolsas de plástico y fue refrigerado hasta su uso.

2.2 Formulación de la bebida

El lactosuero, un efluente líquido resultante de la producción de queso panela, se obtuvo del Centro de Innovación y Desarrollo de la Industria Alimentaria (CIDIA) de la UANL. Se realizaron varias formulaciones ajustando los ingredientes para mejorar características organolépticas, quedando una formulación final, que se muestra en la Tabla 1. Los ingredientes fueron mezclados en una licuadora por 5 min, posteriormente se pasteurizó de acuerdo con la metodología descrita por Sady *et al.* (2013) a una temperatura de 80 °C por 15 min. Finalmente, la bebida se envasó en caliente en frascos de vidrio y se almacenó a 4 °C. A la bebida se le realizó la medición de análisis fisicoquímicos, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, análisis microbiológicos y de reología en los días 1, 7, 14 y 21; para el análisis de composición química y evaluación sensorial se realizó solamente el día 1.

Tabla 1. Lista de ingredientes de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales.
Table 1. List of ingredients of the beverage formulated from agroindustrial by-products.

Ingredientes	Formulación (%)
Lactosuero	83.25
Leche de coco	7.5
Harina de bagazo de naranja	5
Azúcar	4
Goma guar	0.1
Goma xantana	0.1
Canela	0.05

2.3 Análisis Fisicoquímicos

Se llevó a cabo un análisis de la bebida, evaluando la densidad siguiendo la norma NOM-155-SCFI-2012. El contenido de sólidos solubles totales (°Brix), se determinó midiendo unas gotas de la bebida directamente en un refractómetro portátil (modelo Master-M 2313, marca ATAGO), siguiendo el método descrito por Rodríguez-Salinas *et al.* (2021). El pH se midió mediante un potenciómetro introduciendo el electrodo directamente en la bebida, de acuerdo con la NOM-F-317-S-1978. Finalmente, se determinó la acidez titulable, expresada como ácido láctico, siguiendo la metodología establecida en la NOM-155-SCFI-2012; para ello, se utilizó una alícuota de 20 mL de muestra titulando con una solución estándar de NaOH 0.1 N, utilizando fenoltaleína como indicador. Los análisis se realizaron por triplicado.

2.4 Composición química

La composición química de la bebida se analizó mediante métodos estándar de la Asociación de Química Analítica Oficial (AOAC, 2006). El contenido de nitrógeno se determinó con el método

Kjeldahl (AOAC 930.29). El contenido de grasa se midió utilizando el método Soxhlet (AOAC 920.39). El contenido de cenizas se evaluó gravimétricamente (AOAC 14.006), y la fibra dietética total (TDF) (AOAC 985.29); y el extracto libre de nitrógeno (carbohidratos disponibles) se midieron por la diferencia de valores al 100 %.

2.5 Calidad microbiológica

Se realizaron análisis de mesófilos aerobios y psicrófilos utilizando agar cuenta estándar, variando la temperatura de incubación de 37 y 4 °C por 24 h, respectivamente (NOM-092-SSA1-1994). El conteo de bacterias ácido lácticas (BAL) mediante el uso del medio MRS, incubando las placas a 37 °C por 24 h. Para la determinación de coliformes totales se realizó con el agar rojo bilis violeta (RVBA), en incubación de las placas a 37 °C durante 24 h (NOM-113-SSA1-1994). El agar papa dextrosa (PDA) fue utilizado para la determinación de hongos y levaduras incubándose a 25 °C por 24-48 h (NOM-111-SSA1-1994). El conteo de los microorganismos se llevó a cabo por triplicado.

2.6 Contenido de compuestos fenólicos

El contenido de polifenoles y flavonoides totales, se evaluó mediante la metodología descrita por Rodríguez-Salinas *et al.* (2021). Los polifenoles totales fueron calculados con una curva patrón de ácido gálico (0-200 mg L⁻¹) y los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG L⁻¹). Los flavonoides totales se calcularon con una curva de catequina (0-200 mg L⁻¹) y se expresaron en miligramos equivalentes de catequina por litro (mg EC L⁻¹).

2.7 Capacidad antioxidante

La medición de capacidad antioxidante se realizó con un equipo SP-830 Plus (Barnstead, Turner, EUA), mediante los ensayos 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), Ácido 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) con la metodología reportada por Rodríguez-Salinas *et al.* (2021), con modificaciones. Las soluciones de trabajo fueron medidas a 517 nm (DPPH) y 734 nm (ABTS) de longitud de onda. Los resultados fueron expresados en micromoles equivalentes de Trolox por litro (μmol ET L⁻¹), respectivamente, con una curva de Trolox (0-500 μmol L⁻¹).

2.8 Propiedades reológicas

Las propiedades reológicas de la bebida se realizaron mediante una prueba rotacional utilizando un reómetro ReolabQC (Anton Paar, Graz, Australia) según la metodología de Gallardo-Rivera *et al.* (2021). El coeficiente de consistencia (K) y el índice de comportamiento de flujo (n) de la bebida se obtuvieron en función de la velocidad de corte (1-100 s⁻¹) utilizando la geometría C-CC39 a una temperatura de 25 °C.

2.9 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial se realizó basada en estudios previos reportados por Faisal *et al.* (2017), Rodríguez-Basantes *et al.* (2020) y Gallardo-Rivera *et al.* (2021). El estudio se realizó mediante una prueba afectiva de la bebida, evaluada por una prueba hedónica basada en la percepción general de cinco atributos: apariencia, color, olor, sabor y textura con 32 panelistas no entrenados, en un rango de edad de 18-24 años, ambos sexos, formado de estudiantes de licenciatura de la Facultad de Agronomía de la UANL. Los panelistas evaluaron cada atributo con un código generado en una escala del 1 al 5, siendo 1 = "me disgusta mucho", 2 = "me disgusta ligeramente", 3 = "no me gusta, ni me disgusta", 4 = "me gusta ligeramente" y 5 = "me gusta mucho". La muestra fue presentada en vasos transparentes con capacidad de 15 mL.

2.10 Análisis estadístico

Cada análisis de la bebida se realizó por triplicado. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de un factor (ANOVA) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) (5 %). Posteriormente, se llevó a cabo una prueba de Tukey, utilizando el software estadístico Minitab (versión 14). Los resultados se expresan como media $\pm$ desviación estándar.

3. Resultados y discusión

3.1 Análisis fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos de la bebida durante el almacenamiento se muestran en la Tabla 2. La densidad de la bebida fue constante durante su almacenamiento con valores que fluctuaron entre 1.04 a 1.07 g mL⁻¹. Asimismo, el contenido de sólidos totales (°Brix) presentó diferencia significativa en el día 1 con el día 21, con valores entre 12.67 - 14.33 °Brix. El pH se mantuvo en 4.7, sólo en el día 7 subió a 5.0, sin diferencia estadística. Lo anterior indica que un proceso de pasteurización aplicado correctamente a una bebida elaborada con lactosuero no altera los valores de pH (Rodríguez-Salinas *et al.*, 2021). El pH puede mantenerse sin cambio por un periodo de almacenamiento de hasta 21 días mientras no exista la presencia de microorganismos que puedan fermentar la lactosa e incrementar la presencia de ácido láctico (Gavilanes *et al.*, 2018).

Por otro lado, la acidez si mostró diferencia estadística con valores de 0.66 - 0.87 g L⁻¹ con el mayor valor de acidez en el día 1 y el menor el día 21. Los resultados de acidez concuerdan con lo reportado por Souza *et al.* (2020), quienes obtuvieron valores promedio de 0.80 a 0.81 en bebidas elaboradas con lactosuero. En este caso, el resultado de la disminución de la acidez se podría atribuir a la disminución del ácido ascórbico (vitamina C) por causa del almacenamiento (Del Caro *et al.*, 2004; Sady *et al.*, 2013), ya que este ácido es muy susceptible a la oxidación frente a reacciones enzimáticas, presencia de compuestos metálicos, fotosensibilidad, así como contribuir al pardeamiento no enzimático (Maillard) en presencia de grupos amino (Rai *et al.*, 2008; Ilame y Singh, 2018), como los que se encuentran en abundancia en el lactosuero (Gupta y Prakash, 2017).

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales respecto al tiempo.
Table 2. Physicochemical parameters of the drink formulated from agroindustrial by-products with respect to time.

Día	Densidad (g mL ⁻¹)	°Brix	pH	Acidez (g L ⁻¹)
1	1.07 ± 0.02 ^a	12.67 ± 0.6 ^a	4.7 ± 0.1 ^a	0.87 ± 0.05 ^a
7	1.06 ± 0.01 ^a	13.67 ± 0.6 ^{ab}	5.0 ± 0.2 ^a	0.84 ± 0.05 ^a
14	1.05 ± 0.01 ^a	13.67 ± 0.6 ^{ab}	4.7 ± 0.2 ^a	0.78 ± 0.05 ^{ab}
21	1.04 ± 0.01 ^a	14.33 ± 0.6 ^b	4.7 ± 0.2 ^a	0.66 ± 0.05 ^b

Media ± desviación estándar, n=3. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística (p ≤ 0.05) según Tukey.

3.2 Composición química

Los resultados de composición química de la bebida son mostrados en la Tabla 3. Según el método utilizado en la producción del queso influye directamente en la composición química del lactosuero; siendo el componente principal el agua (90-92 %), el resto (8-10 %) está compuesto de lactosa (60-80 %) y proteínas (10-20 %), otros componentes minoritarios que se pueden encontrar son vitaminas, minerales, ácido láctico, oligoelementos y grasas (Pacheco *et al.*, 2017). Pires *et al.* (2021), compararon la composición química del lactosuero de varios mamíferos, encontrando que el de bovino contiene de 4.2 - 5.0 % de lactosa, proteína 0.7-0.9 % y grasas 0.1 - 0.8 %. Aún, cuando el contenido de proteína es mínimo, se consideran de alto valor biológico (por la presencia de aminoácidos azufrados, lisina y triptófano), igualmente posee minerales importantes como potasio, además de calcio, sodio, magnesio y fósforo (Gavilanes *et al.*, 2018). Rodríguez-González *et al.* (2020), formularon y evaluaron bebidas fermentadas de lactosuero mediante la adición de salvado de trigo y pulpa de guayaba, siendo la bebida con mejor resultado la que tenía 79.5 % de lactosuero, cuya composición química fue 84.65 % de agua, 0.47 % de cenizas, 0.63 % de proteína, 0.10 % de grasa y 11.78 % de hidratos de carbono; estos valores son cercanos a la bebida que se formuló en esta investigación.

Tabla 3. Composición química de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales.
Table 3. Chemical composition of the drink formulated from agroindustrial by-products.

Bebida	Porcentaje (%)					*ELN
	Humedad	Cenizas	Proteína cruda	Grasa cruda	Fibra cruda	
	84.0 ± 0.1	0.02 ± 0.0	0.05 ± 0.0	0.07 ± 0.0	0.2 ± 0.1	15.66 ± 0.1

Media ± desviación estándar, n=3.*ELN: Extracto libre de nitrógeno está formado principalmente por carbohidratos.

3.3 Calidad microbiológica

Se evaluó la calidad microbiológica de la bebida a lo largo de 21 días. En la bebida no se detectó presencia de los microorganismos analizados (mesófilos aerobios, coliformes totales,

hongos y levaduras, bacterias acidolácticas y bacterias psicrófilas). Actualmente, en la legislación no hay una norma que establezca la calidad sanitaria de bebidas a base de lactosuero, sin embargo, la NOM-173-SE-2021, menciona en sus denominaciones a "bebidas no alcohólicas con contenido de vegetal o fruta u hortaliza", pero no indica especificaciones sanitarias; mientras, la NOM-218-SSA1-2011, en sus definiciones a "bebida saborizada no alcohólica", en especificaciones microbiológicas indica como límite máximo mesófilos aerobios en 50 UFC/g o mL y coliformes totales 10 NMP/mL o g. En la cuenta microbiológica no se detectó crecimiento para los microorganismos analizados, lo que nos indica una estabilidad y asegura que durante la vida de anaquel de la bebida no muestre indicios de deterioro o alteración microbiológica.

3.4 Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) mostró una disminución durante los días de almacenamiento. Los días de evaluación mostraron diferencia estadística con valores que oscilaron de 1762.42 - 3144.24 mg EAG L⁻¹, con el menor valor observado en el día 21 y mayor en el día 1 de almacenamiento. Los resultados mostraron degradación de compuestos fenólicos con valores que disminuyeron del 0.8 % en el día 7 hasta 43 % en el 21 día de almacenamiento (Tabla 4). La disminución de compuestos fenólicos por almacenamiento concuerda con lo reportado por Del Caro *et al.* (2004), quienes reportaron más del 50 % de disminución de compuestos fenólicos en jugos de naranja almacenados a 4 °C en 15 días, así con lo reportado por Sady *et al.* (2013), quienes reportaron una disminución de compuestos fenólicos de hasta 62 % en 6 meses y 73 % a los 12 meses de almacenamiento en bebidas de jugo de naranja combinado con lactosuero. Estos autores, mencionaron que las condiciones de almacenamiento, tipo de envase, temperaturas y tratamiento previo al almacenamiento son un factor importante en la degradación de los compuestos fenólicos. Los resultados del contenido de compuestos fenólicos en la bebida se atribuyen principalmente a los extractos de naranja debido a que el lactosuero no interfiere con la detección de CFT por la débil (no covalente) interacción polifenol-proteína (Baba *et al.*, 2016).

Tabla 4. Evaluación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales respecto al tiempo.

Table 4. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant activity of the drink formulated from agroindustrial by-products with respect to time.

Día	Compuestos fenólicos mg EAG L ⁻¹	Flavonoides mg EC L ⁻¹	DPPH μmol ET L ⁻¹	ABTS μmol ET L ⁻¹
1	3144.24 ± 233.54 ^a	ND	1121.56 ± 400.11 ^a	5590.37 ± 556.15 ^a
7	3116.96 ± 274.28 ^a	ND	631.67 ± 164.15 ^b	5286.67 ± 957.62 ^a
14	2444.24 ± 84.46 ^b	ND	276.11 ± 85.53 ^b	5405.19 ± 533.95 ^a
21	1762.42 ± 68.23 ^c	ND	265.00 ± 100.00 ^b	4872.85 ± 1160.11 ^a

Media ± desviación estándar, n=3. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística (p≤0.05) según Tukey. ND: No detectado. mg EAG/L⁻¹: miligramos equivalentes de ácido gálico por litro; mg EC/L⁻¹: miligramos equivalentes de catequina por litro; μmol ET L⁻¹: micromoles equivalentes de Trolox por litro.

Los cítricos poseen flavonoides como: hesperidina, naringenina, luteolina, neohesperidina, isosakuranetina, eriodictioil, luteína, epicatequina, catequina (Caristi *et al.*, 2006; Gattuso *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2020; Wedamulla *et al.*, 2022). Sin embargo, en la presente investigación, los flavonoides totales no fueron detectados, lo anterior puede deberse a que los flavonoides en cítricos se encuentran principalmente de forma glicosilada (unidos a un azúcar) (Fernández-López *et al.*, 2009; Favela Hernández *et al.*, 2016), debido a su naturaleza hidrofílica (soluble en agua) (Caristi *et al.*, 2006; Gattuso *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2020), lo que podría dificultar su detección. Lo anterior descrito, puede atribuirse a la técnica utilizada en el experimento para detección de flavonoides. La reacción de $\text{AlCl}_3\text{-NaNO}_2\text{-NaOH}$, puede ser afectada en la formación de complejos metálicos del flavonoide con el Al, si existe bloqueo en los grupos hidroxilo de los carbonos 3, 5, 3' o 4', lo que disminuye su detección (Caristi *et al.*, 2006; Gattuso *et al.*, 2007; Mammen y Daniel, 2012; Rodríguez-Salinas *et al.*, 2021).

Los resultados de capacidad antioxidante en DPPH mostraron diferencia estadística entre los días de análisis con valores que variaron de 265.00 a 1121.56 $\mu\text{mol ET L}^{-1}$, con menor valor observado el día 21 y el mayor el día 1. La pérdida de capacidad antioxidante disminuyó del 100 % considerada en el día 1 hasta el 23 % en el día 21, lo que indica el 77 % de la pérdida de la capacidad antioxidante de la bebida debido al almacenamiento. Por otro lado, los valores en ABTS variaron de 4872.85 a 5590.67 $\mu\text{mol ET L}^{-1}$, con menor valor el día 21 y el mayor en el día 1, observándose una ligera disminución durante el almacenamiento. Sady *et al.* (2013), mencionaron que la disminución de la capacidad antioxidante de extractos de naranja almacenados durante varios días se puede atribuir a la degradación de vitamina C, compuestos fenólicos y carotenoides. También mencionaron que el DPPH en comparación con el ABTS, tiene mayor sensibilidad para detección de compuestos antioxidantes hidrosolubles como la vitamina C.

3.5 Análisis reológico

La Tabla 5, muestra los resultados obtenidos de la reología de la bebida donde se midió el coeficiente de consistencia (K) e índice de comportamiento de flujo (n) respecto al tiempo; la bebida mostró un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$), de acuerdo con la Ley de Potencia. No se observaron diferencias significativas respecto al tiempo, observándose que la viscosidad de la bebida no presentó cambios durante los 21 días del estudio. Pacheco *et al.* (2017), estudiaron el comportamiento reológico del lactosuero y distintos tipos de leche en la elaboración de bebidas lácteas fermentadas, observando que al modificar la cantidad de suero en la bebida y tipo de leche hay variabilidad en los valores de índice de comportamiento de flujo (n) e índice de consistencia (K), posiblemente debido a que el contenido de grasa proveniente de la leche y la adición del suero influye en el contenido de fosfatos, calcio y proteína. La formulación de la bebida estudiada en esta investigación, estuvo compuesta de un 80 % de lactosuero, aun cuando es el ingrediente mayoritario, mantuvo su estabilidad respecto al tiempo (21 días).

Tabla 5. Propiedades reológicas de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales respecto el tiempo.
Table 5. Rheological properties of the beverage formulated from agroindustrial byproducts with respect to time.

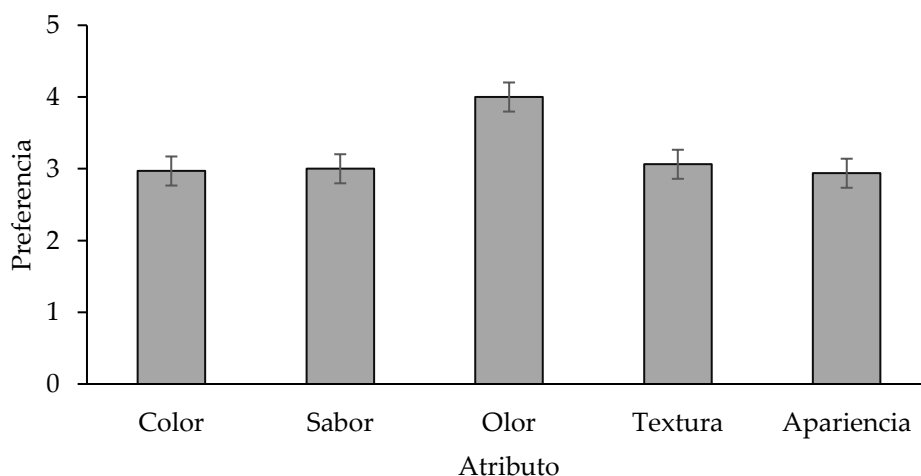
Día	K (Pas)	n
1	1.295 ± 0.146 ^a	0.416 ± 0.036 ^a
7	1.178 ± 0.161 ^a	0.459 ± 0.029 ^a
14	0.946 ± 0.188 ^a	0.486 ± 0.056 ^a
21	1.238 ± 0.075 ^a	0.446 ± 0.010 ^a

Media ± desviación estándar, n=3. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ($p \leq 0.05$) según Tukey. ND: No detectado. K: Coeficiente de consistencia, n: índice de comportamiento de flujo

3.6 Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial se observan en la Fig. 1. Los valores obtenidos de los diferentes atributos de la bebida (color, sabor, olor, textura y apariencia) fueron de 3 y 4, que significa "no me gusta, ni me disgusta" y "me gusta ligeramente", respectivamente. Varios estudios se han realizado para aprovechar el lactosuero en la elaboración de bebidas fermentadas obteniendo aceptabilidad en los productos, en adición a que, el suero posee propiedades saludables y nutricionales, siendo un gran ingrediente disponible para elaborar bebidas e importante para mitigar la sed (Faisal *et al.*, 2017; Skryplonek *et al.*, 2019; Rodríguez-Basantes *et al.*, 2020; Rodríguez-González *et al.*, 2020). No obstante, los resultados obtenidos en este estudio, sugieren la necesidad de reformular la bebida para mejorar su perfil sensorial y aumentar su atractivo para los consumidores.

Grafica 1. Evaluación sensorial de la bebida formulada a partir de subproductos agroindustriales.
Graph 1. Sensory evaluation of the beverage formulated from agroindustrial by-products.



4. Conclusiones

El desarrollo y estudio de esta bebida representa un posible avance en la generación de productos lácteos, resaltando la importancia de aprovechar los subproductos de la industria alimentaria como el lactosuero y el bagazo de naranja para reducir su desperdicio. Los valores fisicoquímicos (densidad, pH, °Brix y acidez), la calidad microbiológica y viscosidad de la bebida se mantuvieron estables durante los 21 días del estudio. La combinación de lactosuero y bagazo de naranja en esta bebida mostró la presencia de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante observándose una disminución durante el almacenamiento, evidenciando una oportunidad de búsqueda de opciones para la estabilidad de estos compuestos en la bebida para evitar su disminución. Si bien, la bebida presentó atributos sensoriales prometedoras, ubicándose en una preferencia en rango moderado entre 3 y 4 equivalentes a "no me gusta, ni me disgusta" y "me gusta ligeramente", respectivamente, estos hallazgos sugieren oportunidades de ajustes en la formulación, para generar una respuesta más favorable por parte de los posibles consumidores. Estos resultados proporcionan una posible guía para futuras investigaciones en el desarrollo de bebidas a partir de fuentes alternativas que beneficien tanto, el medio ambiente como al consumidor, promoviendo una economía circular.

Contribuciones de los autores

Conceptualización, C.T.A.; metodología, C.T.A.; software, P.A.R.S.; validación, P.A.R.S.; análisis formal, M.A.A.J.; investigación, C.T.A., P.A.R.S. y G.G.S., recursos, S.G. y G.G.S.; conservación de datos, M.A.A.J.; redacción-redacción del borrador original, C.T.A. y P.A.R.S.; redacción-revisión y edición, C.T.A. y P.A.R.S.; visualización, C.T.A. y P.A.R.S.; supervisión, C.T.A.; administración del proyecto, P.A.R.S.; obtención de financiación, C.T.A. y P.A.R.S. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo al PAICYT, con la clave de proyecto: 79-CAT-2022.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

5. Referencias

AOAC. 2006. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (17th ed.).
Baba, W. N., Din, S., Punoo, H. A., Wani, T. A., Ahmad, M., & Masoodi, F. A. (2016). Comparison of cheese and paneer whey for production of a functional pineapple beverage: Nutraceutical

- properties and Shelf life. *Journal of Food Science and Technology*, 53: 2558-2568. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2218-8>
- Caristi, C., Bellocco, E., Gargiulli, C., Toscano, G., & Leuzzi, U. (2006). Flavone-di-C-glycosides in citrus juices from Southern Italy. *Food Chemistry*, 95(3): 431-437. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.031>
- Chavan, P., Singh, A. K., & Kaur, G. (2018). Recent progress in the utilization of industrial waste and by-products of citrus fruits: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 41(8): e12895. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12895>
- Del Caro, A., Piga, A., Vacca, V., & Agabbio, M. (2004). Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1): 99-105. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00180-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00180-8)
- Durán-Mendoza, T., González-Pérez, M., Cruz-Leyva, M. C. de la, Cruz, J. U. G.- de la, Cuenca-Soria, C. A., Guzmán-Ceferino, J., Angulo-Guerrero, J. O., & Pérez-Sánchez, C. del C. (2018). Análisis Del Efecto De La Adición De Fibra Cítrica Del Bagazo De La Naranja En Las Propiedades Nutrimientales Y Sensoriales De Un Embutido Y Determinación De La Calidad Microbiológica. *European Scientific Journal*, 14(18): 14. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n18p14>
- Faisal, S., Chakraborty, S., Devi, W. E., Hazarika, M. K., & Puranik, V. (2017). Sensory evaluation of probiotic whey beverages formulated from orange powder and avor using fuzzy logic. *International Food Research Journal* 24(2): 703-710. <https://shorturl.at/xgIpG>
- FAO 2023. Producción y productos lácteos: Composición de la leche [en línea]. <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/milk-composition/es>
- Favela-Hernández, J. M. J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M. A., Esquivel-Ferriño, P. C., & Camacho-Corona, M. D. R. (2016). Chemistry and Pharmacology of Citrus sinensis. *Molecules*, 21(2): 247. <https://doi.org/10.3390/molecules21020247>
- Fernández-López, J., Sendra-Nadal, E., Navarro, C., Sayas, E., Viuda-Martos, M., & Alvarez, J. A. P. (2009). Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(4): 748-756. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01892.x>
- Gallardo-Rivera, C., Báez-González, J.G., García-Alanís, K.G., Torres-Alvarez, C., Dares-Sánchez, K., Szymanski, A., Amaya-Guerra, C.A., & Castillo, S. (2021). Effect of Three Types of Drying on the Viability of Lactic Acid Bacteria in Foam-Mat Dried Yogurt. *Processes*, 9(12): 2123. <https://doi.org/10.3390/pr9122123>
- Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U., & Caristi, C. (2007). Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules*, 12(8): 1641-1673. <https://doi.org/10.3390/12081641>
- Gavilanes, L. P. I., Zambrano, Z. A. M., Romero, R. C. F., & Moro, P. A. (2018). Evaluación de una bebida láctea fermentada novel a base de lactosuero y harina de camote. *La Técnica. Revista de agrociencias*. 19: 47-60. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i19.734
- Gupta, C., & Prakash, D. (2017). Therapeutic potential of milk whey. *Beverages*, 3(3): 31. <https://doi.org/10.3390/beverages3030031>
- Ilame, S. A., & Singh, S. V. (2018). Physico-chemical properties of ultrafiltered kinnow (mandarin) fruit juice. *Journal of food science and technology*, 55: 2189-2196. <http://doi.org/10.1007/s13197-018-3136-8>
- Kumar, K., Yadav, A. N., Kumar, V., Vyas, P., & Dhaliwal, H. S. (2017). Food waste: A potential bioresource for extraction of nutraceuticals and bioactive compounds. *Bioresources and Bioprocessing*, 4: 18. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0148-6>
- Mammen, D., & Daniel, M. (2012). A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food chemistry*, 135(3): 1365-1368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.109>

- NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0
- NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0
- NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69536.pdf>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012, Leche-Denominaciones, especificaciones físicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
<https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4692/seeco/seeco.htm>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-173-SE-2021, Jugos, agua de coco, néctares, bebidas no alcohólicas con contenido de vegetal o fruta u hortaliza y bebidas saborizadas no alcohólicas preenvasadas-Denominaciones-Especificaciones-Información comercial y métodos de prueba.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5643986&fecha=28/02/2022#gsc.tab=0
- NORMA Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.
<https://dof.gob.mx/normasOficiales/4643/salud/salud.htm>
- NORMA Oficial Mexicana "Determinación de pH en Alimentos" NOM-F-317-S-1978.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4704689&fecha=23/05/1978#gsc.tab=0
- Pacheco, V. M. M., Porras, A. O. O., Velasco, E., Morales-Valencia, E. M., & Navarro, A. (2017). Effect of the milk-whey relation over physicochemical and rheological properties on a fermented milky drink. *Ingeniería y competitividad*, 19(2): 80-88. <https://doi.org/10.25100/iyv.v19i2.5295>
- Pacheco, M. T., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2018a). Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2): 868-876. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9257>
- Pacheco, M. T., Vezza, T., Diez-Echave, P., Utrilla, P., Villamiel, M., & Moreno, F. J. (2018b). Anti-inflammatory bowel effect of industrial orange by-products in DSS-treated mice. *Food & function*, 9(9): 4888-4896. <https://doi.org/10.1039/C8FO01060A>
- Parra-Huertas, R. A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1): 4967-4982.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179915377021>
- Pires, A.F., Marnotes, N.G., Rubio, O.D., Garcia, A.C., & Pereira, C.D. (2021). Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. *Foods*, 10: 1067. <https://doi.org/10.3390/foods10051067>
- Rai, P., Rai, C., Majumdar, G. C., Dasgupta, S., & De, S. (2008). Storage study of ultrafiltered mosambi (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice. *Journal of food processing and preservation*, 32(6): 923-934. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00222.x>
- Rodríguez-González, D., Colominas Aspuro, A. M., Rodríguez Fuertes, W. S., & Hernández Monzón, A. (2020). Bebida fermentada de suero con la adición de salvado de trigo y pulpa de guayaba (*Psidium guava* L.). *Tecnología Química*, 40(2), 428-441. <https://shorturl.at/rV72W>
- Rodríguez-Basantes, A. I., Abad Basantes, C. A., Pérez Martínez, A., & Diéguez Santana, K. (2020). Elaboración de una bebida a base de suero lácteo y pulpa de *Theobroma grandiflorum*. *Bioteecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 18(2): 166-175. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(18\)166-175](https://doi.org/10.18684/BSAA(18)166-175)

- Rodríguez-Salinas, P. A., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, D., Basilio-Heredia, J., Suarez-Jacobo, A., Báez-González, J. G., Zavala-García, F., & Niño-Medina, G. (2021). Efecto de termosonicación y pasteurización sobre propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y nutracéuticas en bebidas de maíz. *Biotechnia*, 23(1): 92-101. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i1.1204>
- Sady, M., Jaworska, G., Grega, T., Bernas, E., & Domagala, J. (2013). Application of acid whey in orange drink production. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2): 266. <https://www.ftb.com.hr/archives/1096-application-of-acid-whey-in-orange-drink-production>
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2020). Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. *Food Research International*, 132: 109114. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109114>
- Skryplonek, K., Dmytrów, I., & Mituniewicz-Małek, A. (2019). Probiotic fermented beverages based on acid whey. *Journal of Dairy Research*. 102 (9): 7773-7780. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16385>
- Souza, H. F. D., Borges, L. A., Lopes, J. P. A., Carvalho, B. M. A. D., Santos, S. H. S., Almeida, A. C. D., Lima, W. J. N., & Brandi, I. V. (2020). Elaboration, evaluation of nutritional information and physical-chemical stability of dairy fermented drink with caja-mango pulp. *Food Technology. Ciência Rural*, 50(1). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190644>
- Wedamulla, N. E., Fan, M., Choi, Y. J., & Kim, E. K. (2022). Citrus peel as a renewable bioresource: Transforming waste to food additives. *Journal of Functional Foods*, 95: 105163. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105163>
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6): 756-774. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.002>

2024 TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Effect of a black garlic extract combined with ascorbic acid on the colour and lipid oxidative stability of patties

Efecto de un extracto de ajo negro combinado con ácido ascórbico sobre el color y la oxidación lipídica de hamburguesas

Nuria Fernández Fernández-Valladares ¹, Irma Caro², Javier Mateo¹ y Mauricio Fernando Mariño-Almache^{1*}

¹ Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Universidad de León. Campus Vegazana s/n, 24007 León, Spain

² Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid. Avenida Ramón y Cajal 7, 47005 Valladolid, Spain

*Correspondencia: mmaria00@estudiantes.unileon.es (Mauricio Fernando Mariño-Almache)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1683>

Recibido: 30 de septiembre de 2024; Aceptado: 16 de diciembre de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Diego Eloy Carballo-Carballo

Abstract

Oxidation of meat products limits their quality and shelf life and is prevented by antioxidant additives. Natural ingredients rich in antioxidants are proposed as an alternative to these additives. In this study, the antioxidant effect of an aqueous extract of black garlic, as a natural ingredient rich in polyphenols, was evaluated in pork patties. 20 ml of extract, obtained from a homogenate prepared with one-part garlic and three parts water, was used per kg of patty in combination with three levels of ascorbic acid (from 0.125 to 0.5 g/kg). The effect of different combinations to prevent discolouration in raw patties and lipid oxidation stability in cooked patties during aerobic refrigerated storage was tested. The use of black garlic extract darkened the patties and increased the red and yellow indices. Ascorbic acid potentiated the antioxidant effect of black garlic in cooked patties and vice versa. The black garlic extract combined with ascorbic acid, even in an amount four times lower than that commonly used in the meat industry, was the treatment with the highest antioxidant effect.

Keywords: natural antioxidant, patty, meat quality, black garlic, shelf life

Resumen

La oxidación de los productos cárnicos limita su calidad y vida útil y se evita mediante aditivos antioxidantes. Como alternativa a estos aditivos, se propone el uso de ingredientes naturales ricos en antioxidantes. En este estudio, se evaluó el efecto antioxidante de un extracto acuoso de ajo negro, como ingrediente natural rico en polifenoles, en hamburguesas de cerdo. Se utilizaron 20 ml de extracto, obtenido de un homogeneizado preparado con una parte de ajo y tres de agua, por kg de hamburguesa en combinación con tres diferentes niveles de ácido ascórbico (entre 0,125 a 0,5 g/kg). Se comprobó el efecto de las distintas combinaciones para prevenir la decoloración en las hamburguesas crudas y la estabilidad de la oxidación lipídica en las hamburguesas cocinadas durante el almacenamiento aeróbico refrigerado. El uso de extracto de ajo negro oscureció las hamburguesas y aumentó los índices de rojo y amarillo. El ácido ascórbico potenció el efecto antioxidante del ajo negro en las hamburguesas cocidas y viceversa. El extracto de ajo negro combinado con ácido ascórbico, incluso en una cantidad cuatro veces inferior a la utilizada habitualmente en la industria cárnica, fue el tratamiento con mayor efecto antioxidante.

Palabras clave: antioxidante natural, hamburguesa, calidad de carne, ajo negro, vida útil.

1. Introduction

One of the limiting factors in the quality of meat and meat products is lipid auto-oxidation (Morrissey *et al.*, 1998). This oxidation is an irreversible process that occurs by a chain reaction mechanism mediated by the formation of free radicals. The initiation of this reaction and its extent over a given time depends on a balance between pro-oxidant and antioxidant factors in the product and the environment (Choe and Min, 2006). In the autooxidation process, peroxides and secondary oxidation compounds of low molecular weight are generated, and chemical changes occur in proteins such as cross-linking or oxidation of metals such as iron bound to myoglobin. As a result, the sensory attributes of the meat are altered, and potentially toxic compounds such as free radicals or cholesterol oxides are formed (Morrissey *et al.*, 1998; Sampels, 2013). In response to this alteration process, meat processing can resort to the use of antioxidant additives, which are substances that, at low concentrations, prevent or avoid oxidative damage to specific molecules by scavenging reactive oxygen species (ROS), enhancing biological antioxidant defences or inhibiting ROS production (Khlebnikov *et al.*, 2007).

Research and the food industry are actively working on incorporating antioxidant-rich natural ingredients derived from condiments, spices, fruits, vegetables or seeds containing polyphenols or other bioactive compounds (Karre *et al.*, 2013; Falowo *et al.*, 2014; Shahidi and Ambigaipalan, 2015). Antioxidant compounds encompass a wide range of sources, including conventional and non-conventional edible materials and by-products such as fruit peels, seeds, and medicinal herbs. The most frequent bioactive compounds with antioxidant power present in plants are phenolic compounds, although there are also other natural antioxidant compounds such as non-phenolic terpenoids, vitamins, metal-chelating ions, proteins and peptides (Falowo *et al.*, 2014). In addition to their antioxidant properties, antioxidant-rich ingredients could contribute to the nutritional improvement of foods, including meat products, by providing fibre, vitamins or minerals (Falowo *et al.*, 2014), as well as antimicrobial compounds (Hygreeva *et al.*, 2014). However, on the other hand,

dietary phenolic compounds can exert a negative impact on the digestion processes such as enzyme inhibition (Cirkovic Velickovic and Stanic-Vucinic, 2018).

Black garlic is the result of the transformation or blackening of common garlic through the Maillard reaction. Its use as a food ingredient or for medical purposes dates to ancient times in regions of the Asian continent. Kimura *et al.* (2017) reported that the consumption of black garlic as a condiment in culinary preparations or for direct consumption is spreading and that it is associated with functional antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer or anti-diabetic properties, indicating its beneficial health properties.

To obtain the black garlic, fresh garlic is kept at a constant temperature of 45-70 °C with a relative humidity of 70-80 % for a variable period of time, usually between 15-40 days, after which it is cooled and dried for approximately one week (Dewi and Mustika, 2018). The process results in a product with 40-50 % moisture content, a mild aroma, and a tender and creamy texture. It has been determined that the optimal ageing period for garlic to maximise its antioxidant capacity is 21 days (Choi *et al.*, 2014). Black garlic is a stable product at room temperature, with a shelf life of about 18 months, provided the storage conditions are appropriate (dry, cool and away from light).

The use of black garlic as an antioxidant ingredient in meat derivatives has scarcely been studied. In recent studies (Lee *et al.*, 2019; Barido *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2024), it has been found that the use of black garlic in meat patties revealed a significant lipid antioxidant effect. The antioxidant effect has been attributed to active compounds such as reducing sugars resulting from enzymatic hydrolysis flavonoids, polyphenols, alkaloids, S-allyl-cysteine, and some of the Maillard reaction intermediates, i.e. 5-hydroxymethylfurfural (Choi *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2016; Kimura *et al.*, 2017). This effect could be comparable or synergistic with that of ascorbic acid, an antioxidant additive commonly used in the meat industry.

This study aimed to assess the impact of combining black garlic with ascorbic acid, a commonly used antioxidant additive in the meat industry, on lipid oxidation and colour stability in pork patties stored under aerobic conditions.

2. Materials and methods

2.1 Experimental design

The study comprised two main phases: an *in vitro* analysis and an *in-situ* application. In the *in vitro* part, the antioxidant capacity of a black garlic aqueous extract was evaluated by determining the total polyphenol content and performing the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) test. The antioxidant capacity of the garlic extracts obtained by the DPPH test was compared with that of two antioxidant additives used in the food industry: ascorbic acid and butylated hydroxytoluene (BHT). In the *in-situ* phase, the focus was on assessing the colour stability of raw pork patties and the oxidative stability of lipids in cooked pork patties containing different levels of the black garlic extract combined with different amounts of ascorbic acid, during a six-day period of aerobic refrigerated storage. The colour stability was determined by measuring the change in instrumental colour, and the oxidative stability of lipids was determined by changes in the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as an indicator of lipid peroxidation.

2.2 Preparation of the black garlic extract and patties

Two samples of black garlic were purchased at the local market. The garlic cloves were minced with a domestic food processor, and 25 g of minced garlic was mixed with 75 g of distilled water with an Ultraturrax T18 IKA Werke (Staufen, Germany) for 2 min at 13,500 revolutions per minute. The pH was then adjusted with 0.1 M NaOH to 7.0 and centrifuged for 25 min at 12,000 rpm with a Beckman J2-21 centrifuge (Palo Alto, U.S.A). The supernatant was first filtered through a Whatman No. 1 filter (Darmstadt, Germany) and then through a 0.45 mm pore size polytetrafluoroethylene filter (Membrane Solutions, LLC, Auburn, WA, USA).

Frozen pork loin meat purchased from a local market produced the patties. A 2 kg meat piece was thawed for 48 h at 4 °C, minced in a Mainca mincer (Mainca PM-12; Granollers, Spain) with a 6 mm plate, salt was added at a rate of 15 g/kg and mixed by hand for 6 min. The different patties were prepared in duplicate (two batches, each prepared on different days). Two sets of patties were prepared inside each replication, one with each sample of black garlic purchased. Five treatments (formulations) were prepared for each set (Table 1): i) a control sample without added antioxidants; ii) a formulation containing 2 % (v/w) black garlic extract, attempting to use a high quantity without compromising sensory characteristics (Augustynska-Prejsnar *et al.* 2024); iii) patties with 2 % (v/w) of an ascorbic acid solution (25 mg/mL), a level commonly used in the food industry (0.5 mg ascorbic acid/kg patty); and iv-vi) formulations combining 2 % (v/w) black garlic extract with 2 % (v/w) ascorbic acid with low (6.25 mg/mL), medium (12.5 mg/mL), and high (25 mg/mL) concentrations, respectively.

Tabla 1. Formulaciones de hamburguesas y cantidades de antioxidantes para cada tratamiento experimental.

Table 1. Patty formulations and amounts of antioxidants for each experimental treatment

	Amounts used (g or ml/100 g of patty mix)				Concentration (g/kg of patty mix)	
	Meat+salt	Water	Ascorbic acid solution	Black garlic extract	Black garlic (g)*	Ascorbic acid
CON	90	10	0	0	0	0
AsCh	90	8	2	0	0	0.5
BG	90	8	0	2	5	0
BG+AsCl	90	6	2	2	5	0.12
BG+AsCm	90	6	2	2	5	0.25
BG+AsCh	90	6	2	2	5	0.5

CON: control treatment; AsCh: patty to which a 25 mg/mL ascorbic acid solution was added; BG: patty containing black garlic; BG+AsCl: patty containing black garlic and a 6.25 mg/mL ascorbic acid solution; BG+AsCm: patty containing black garlic and a 12.5 mg/mL ascorbic acid solution; BG+AsCh: patty containing black garlic and a 25 mg/mL ascorbic acid solution.

* g equivalents, i.e. grams of black garlic to prepare the amount of garlic extract needed to produce 1 kg of patty mixes.

Two patties, 80 g, 5-6 cm diameter and 1.3-1.6 cm thick patties covered with cellophane plastic were prepared for each treatment and set. One of the patties was used for colour determination, which was determined on the day of the patty forming (day 1) and after 6 days of refrigerated storage (day 7). The other patty was vacuum packaged, cooked for 40 min at 70 °C, removed from the packaging and used for TBARS determination just after cooking (day 1) and after six days of storage (day 7).

Raw and cooked samples were stored in plastic trays covered with polyethylene cling film at 4 °C under darkness.

2.3 Polyphenol content and antioxidant activity of black garlic extract

The total polyphenol content of the garlic extracts was performed, in duplicate, by the Folin-Ciocalteu test following the indications described by Musci and Yao (2017). 0.25 mL of a 1/50 (v/v) aqueous dilution of garlic extract was added to 1 mL of 0.2 M Folin-Ciocalteu reagent, the mixture was shaken and kept for 5 min at room temperature (20 °C) in the dark. Then 1 mL of a 10 % (w/v) Na₂CO₃ solution was added, stirred and kept in the dark for 60 min. Finally, the absorbance of the sample was determined at 765 nm in a Miltonroy spectrophotometer (Spectronic 40, Ivyland, USA). Quantification was performed using gallic acid standard solutions. The results were expressed as mg gallic acid equivalents/L of black garlic extract.

The DPPH test was carried out in duplicate, according to Habinshuti *et al.* (2019). A 1/800 dilution of black garlic extracts (v/v) was prepared, and 1 mL of each dilution was mixed with 2.0 mL of a solution of DPPH (0.1 M) in ethanol. The mixture was vortexed and kept in the dark for 20 min at room temperature (22 °C). The absorbance was read at 517 nm using a Miltonroy spectrophotometer (Spectronic 40, Ivyland, USA). The absorbance of control with 1 mL of distilled water and 2 mL of DPPH solution was also determined. The colour reduction in percentage was calculated as a measure of reducing activity (%) = [blank A₅₁₇ - sample A₅₁₇] / blank A₅₁₇ × 100. Sample A₅₁₇ represents the absorbance of the sample solution and blank A₅₁₇ represents the absorbance of 1.0 mL of water mixed with the DPPH solution. Furthermore, the antiradical capacity of ascorbic acid and BHT was determined from 5 and 10 mg/L ethanol dilutions, respectively. One mL of each solution was mixed with 2 mL of the DPPH solution, and the colour reduction was compared against the blank. Finally, the antioxidant capacity of the extracts was compared with that of the ascorbic acid and BHT solutions, obtaining the equivalent reducing capacity of the garlic extract (1 mL of extract) to 1 mg of ascorbic acid or 1 mg of BHT.

2.4 Patty quality measurements

Colour determination was carried out in duplicate with a CM-700d colorimeter (Konica-Minolta, Oxaca, Japan) in specular component included (SCI) mode, illuminant D65, measuring aperture 11 mm and observer angle 10°. Colour was expressed in the coordinates of lightness, L*; red index, a*; and yellow index, b* (AMSA, 2012).

The TBARS test was carried out in duplicate following Nam and Ahn (2003). Half of each cooked patty was minced with a domestic mincer, 2 g were taken, to which 20 mL of water was added, homogenized for 1 min at 9,500 rpm with an IKA Ultra-turrax (Staufen, Germany) and filtered with a strainer into a beaker. Then 1 mL of homogenate was placed into a tube, 50 µL of a solution of BHT in 7.2 % (w/v) ethanol was added, and the mixture was shaken, and 2 mL of 20 mM thiobarbituric acid in a 15 % (w/v) trichloroacetic acid solution was added and shaken again. The tubes were then placed in a water bath for 20 minutes at 80 °C. After this time, the tubes were cooled in a water bath and then centrifuged for 20 minutes at 3000 rpm and 5 °C using a Beckman centrifuge model J2-21 (Palo Alto, U.S.A). Finally, the absorbance of the supernatant was measured at 531 nm in a

spectrophotometer. In addition, a series of standards were prepared to make a calibration curve from a stock solution of tetraethoxypropane (TEP) 3×10^{-5} M, which were analyzed following the steps described above, omitting filtration and centrifugation.

2.5 Statistical analysis

The mean values obtained from the analytical replicates of patty characteristics (colour and TBARS) were analyzed by univariate analysis of variance (general linear model; software SPSS v.26; IBM, Somers, NY, USA). Treatment and time were used as fixed factors, and garlic type as a random factor. When the analysis was significant ($P < 0.05$), a pairwise analysis was carried out with the posthoc Tukey test to assess differences between treatments within the same day or days within a treatment ($P < 0.05$).

3. Results and discussion

3.1 Polyphenol content and antioxidant activity of black garlic extract

The antioxidant potential of natural antioxidants depends on the polyphenol content. However, total polyphenol content has limitations in predicting antioxidant capacity, as the antioxidant activity of polyphenolic compounds will depend on their chemical structure (Sang *et al.*, 2002). Table 2 shows the polyphenol content of the black garlic used in the experiment. In addition, several studies have shown how the ageing process to which fresh garlic is subjected to obtain black garlic has an impact on the polyphenol content, leading to an increase in polyphenols (Kimura *et al.*, 2017, Choi *et al.*, 2014). The amounts obtained in this study are lower than those of Toledano-Medina *et al.* (2016), who found 2-4 times higher amounts. The variability between studies may be due not only to the variety or maturity of garlic (Škrovánková *et al.*, 2018), but also to the extraction method.

Tabla 2. Contenido en polifenoles solubles y capacidad antioxidante de un extracto acuoso de ajo negro (BG) comparado con el del ácido ascórbico (Asc) y el hidroxitolueno butilado (BHT).

Table 2. Soluble polyphenol content and antioxidant capacity of a black garlic aqueous extract (BG) compared to that of ascorbic acid (Asc) and butylated hydroxytoluene (BHT)

	Mean $\pm$ standard deviation (n = 2)
Polyphenol content [§]	408 $\pm$ 116
Antioxidant capacity of BG extract compared to Asc ^{&}	0.480 $\pm$ 0.100
Antioxidant capacity of BG extract compared to BHT ^{&}	0.169 $\pm$ 0.036

[§] expressed as mg gallic acid equivalents/L black garlic extract (prepared from 25 g of garlic and 75 ml of water)

[&] expressed as mL of garlic extract with an antioxidant capacity equivalent to 1 mg of ascorbic acid as determined with the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method.

Table 2 also shows the antioxidant (antiradical) capacity of garlic extracts relative to the antioxidant capacity shown by ascorbic acid and BHT, two antioxidants used in the food industry. Overall, the

results show that 0.48 and 0.17 mL of garlic extract showed an anti-radical effect equivalent to 1 mg of ascorbic acid and BHT, respectively. The antioxidant effect of black garlic has been mainly attributed to polyphenols and the compound S-allyl-cysteine, derived from alliin (Toledano-Medina *et al.*, 2016). These authors compared the antiradical activity of fresh and black garlic using the DPPH method and found that the activity of black garlic was about 10 times higher than that of fresh garlic.

3.2 Patty quality measurements (colour and lipid oxidation)

The CIELAB colour parameters of the patties with different formulations are shown in Table 3. Treatment significantly affected the brightness of the patties, but time showed no significant effect. Considering the mean L^* values of both days, the use of black garlic decreased the brightness compared to the control patties, with significant differences being observed when the addition of garlic was accompanied by medium or high values of ascorbic acid. This tendency can be attributed to the black hue of black garlic.

The redness index (a^*) of the patties was significantly affected by treatment, storage and the interaction between the above factors was also significant. On day 1 of storage, the addition of garlic together with medium and high amounts of ascorbic generated a more intense red colour than the control patties. It appears that black garlic has some synergy with ascorbic acid in the reddening of the patties, which could be considered advantageous from a colour acceptance point of view. In potential agreement, in a previous study, Augustynska-Prejsnar *et al.* (2024) found that the addition of black garlic in amounts of 2 % in meat products made with minced meat (higher than the amount used in this study) improved their sensory acceptability. However, sensory acceptability in terms of colour, flavour and overall acceptability dropped with amounts higher than 4 %.

Overall, with storage time, the value of a^* in the patties tended to increase. This increase might be attributed to water increased oxymyoglobin concentration due to water evaporation from the patty surface during storage or increased oxygen penetration (Callejas-Cárdenas *et al.*, 2014). This increase in a^* indicates that the eventual oxidation of the meat pigment due to oxidation reactions leading to discolouration was more than compensated by water evaporation or oxygen diffusion. However, the reddening was not as marked in either patty, being more marked and significant in the CON patties, those to which black garlic was added and those to which black garlic with high ascorbic acid was added. After seven days of storage, however, no significant differences were observed between the control and any of the other treatments, but it was observed that the addition of ascorbic acid to the patties with black garlic made the patties redder than the patty with black garlic and no ascorbic acid.

Concerning the yellowness index (b^*), the addition of black garlic produced an increase compared to the CON patty and with ascorbic acid, which was significant when the addition of black garlic was accompanied by ascorbic acid and more evident after 7 days of refrigerated storage. The storage time had no influence on this colour coordinate.

Tabla 3. Efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento refrigerado en el color de las hamburguesas crudas (medias y desviaciones estándar).**Table 3.** Effect of treatment and refrigerated storage time on the colour of raw patties (means and standard deviations)

	Storage			P-level		
	Day 1 (n = 4)	Day 7 (n = 4)	Mean value	Treatment	Day	Treatment x day
L*						
CON	45.2±0.6	45.4±0.1	45.28±2.50 ^a	0.022	0.246	0.230
AsCh	45.6±0.9	45.7±0.4	45.68±2.44 ^a			
BG	41.7±3.5	43.6±5.4	42.65±2.28 ^{ab}			
BG+AsCl	41.6±2.0	42.8±4.3	42.21±3.30 ^{ab}			
BG+AsCm	40.8±1.0	41.4±2.0	41.14±2.28 ^b			
BG+AsCh	40.9±0.4	41.2±0.2	41.04±2.21 ^b			
a*						
CON	5.86±0.03 ^{b,y}	9.20±0.06 ^{ab,x}	7.71±1.57	<0.001	0.046	<0.001
AsCh	6.43±1.01 ^{ab,y}	9.00±0.65 ^{ab,x}	7.53±1.83			
BG	7.10±0.81 ^{ab}	7.32±1.70 ^b	7.21±1.09			
BG+AsCl	7.28±0.13 ^{ab}	9.69±1.40 ^a	8.27±1.32			
BG+AsCm	7.62±1.19 ^a	8.92±1.33 ^{ab}	8.49±1.53			
BG+AsCh	7.46±0.54 ^{a,y}	10.18±0.40 ^{a,x}	8.82±1.57			
b*						
CON	14.97±0.42	15.38±0.70 ^b	15.17±0.95 ^b	<0.001	0.166	0.030
AsCh	15.28±2.07	15.64±0.19 ^b	15.43±1.43 ^b			
BG	16.88±0.94	16.40±0.78 ^{ab}	16.64±1.13 ^{ab}			
BG+AsCl	17.80±2.51	18.22±0.37 ^a	18.02±1.60 ^a			
BG+AsCm	17.57±0.58	18.40±0.35 ^a	17.98±1.00 ^a			
BG+AsCh	17.12±1.06	18.46±1.11 ^a	17.79±1.44 ^a			

CON: control treatment; Asc_h: patty to which a 25 mg/mL ascorbic acid solution was added; BG: patty containing black garlic; BG+Asc_l: patty containing black garlic and a 6.25 mg/mL ascorbic acid solution; BG+Asc_m: patty containing black garlic and a 12.5 mg/mL ascorbic acid solution; BG+Asc_h: patty containing black garlic and a 25 mg/mL ascorbic acid solution.

^{ab} Mean values followed by different superscript letters in the same columns are statistically significant ($P < 0.05$). ^{xy} Mean values followed by different superscript numbers in the same row are statistically significant ($P \leq 0.05$).

The values of TBARS, an indicator of lipid oxidation, in the patties cooked at the beginning and end of aerobic refrigerated storage, are shown in Table 4. On day 1 of storage, TBARS values were generally lower than 0.5 mg of malondialdehyde/kg of patty in all treatments and significant differences were observed. The patty with ascorbic acid showed the lowest oxidation rate, with significant differences compared to the patty with black garlic and high levels of ascorbic acid. Ascorbic acid, as a reducing agent, can act as an electron donor in free radical-mediated oxidative processes by stabilizing, to some extent, the lipid oxidation of meat (Min *et al.*, 2008) during the patty-making and cooking processes. On the other hand, black garlic may contain coloured substances such as Maillard compounds or phenolics, which could interfere in TBARS analysis, increasing the

absorbance and, thus, the concentration (Pérez and Estévez, 2020). Maybe that is why the average TBARS values of black garlic samples on day 1 of storage are, on average, somewhat higher than patties without black garlic.

Refrigerated aerobic storage of the cooked patties clearly caused lipid oxidation in all treatments, a characteristic phenomenon of cooked meat during aerobic refrigerated storage (Min *et al.*, 2008). However, results showed that the intensity of oxidation depended on the treatment. The prevention of oxidation by ascorbic acid and black garlic was also observed after seven days of storage. The control patties were the most oxidized; in the second position, the patties with ascorbic acid or black garlic as the only antioxidants and in the third position were the patties with both antioxidants, black garlic and ascorbic acid.

The antioxidant activity of ascorbic acid in the patties after storage is attributable to electron donation or free radical inhibition (Min *et al.*, 2008). This activity may be limited because it decreases over time due to ascorbic acid degradation or exposure to adverse environmental conditions such as light and oxygen (Bellucci *et al.*, 2022). The antioxidant effect observed in the patties with black garlic could be exerted by a range of antioxidant substances, including polyphenols or Maillard reaction products, which may act by anti-radical mechanism and by mechanisms other than hydrogen donation (Choi *et al.*, 2014; Kimura *et al.*, 2017). Interestingly, the results show a clear synergistic effect of ascorbic acid and black garlic independent of the amount of ascorbic acid used. The patties with black garlic and ascorbic acid, unlike the rest and regardless of the level of ascorbic acid, showed TBARS values below 2 mg/kg on day 7, which, according to Domínguez *et al.* (2017) can be considered a TBARS threshold indicative of rancid flavour in meat.

Tabla 4. Efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento refrigerado sobre la estabilidad oxidativa lipídica de las hamburguesas cocidas determinada por las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico expresadas en mg de malondialdehído/kg de hamburguesa (medias y desviaciones estándar).

Table 4. Effect of treatment and refrigerated storage time on the lipid oxidative stability of cooked patties determined by the thiobarbituric acid reactive substances expressed as mg of malondialdehyde/kg patty (means and standard deviations)

	Storage		Mean value	P-level		
	Day 1 (n = 4)	Day 7 (n = 4)		Treatment	Day	Treatment x day
CON	0.30±0.07 ^{ab,x}	3.97±0.69 ^{c,x}	2.13±1.95	0.002	0.023	0.005
AsC _h	0.23±0.07 ^{b,x}	2.45±0.20 ^{b,x}	1.34±1.16			
BG	0.42±0.07 ^{a,x}	2.78±0.97 ^{b,x}	1.60±1.42			
BG+AsC _l	0.39±0.04 ^{ab,x}	1.72±0.38 ^{a,x}	1.06±1.42			
BG+AsC _m	0.38±0.10 ^{ab,x}	1.77±0.50 ^{a,x}	1.07±0.81			
BG+AsC _h	0.43±0.17 ^{a,x}	1.66±0.50 ^{a,x}	1.04±0.74			

CON: control treatment; AsC_h: patty to which a 25 mg/mL ascorbic acid solution was added; BG: patty containing black garlic; BG+AsC_l: patty containing black garlic and a 6.25 mg/mL ascorbic acid solution; BG+AsC_m: patty containing black garlic and a 12.5 mg/mL ascorbic acid solution; BG+AsC_h: patty containing black garlic and a 25 mg/mL ascorbic acid solution.

^{abc} Values followed by different superscripts in the same columns are statistically significant ($P < 0.05$).

^{xy} Values followed by different superscripts in the same row are statistically significant ($P \leq 0.05$).

The synergy of ascorbic acid with other antioxidants, such as tocopherols, in the prevention of oxidation of minced meat has been previously demonstrated (Bruun-Jensen *et al.*, 1996), but no previous studies on the synergistic effect of black garlic and ascorbic acid in meat products have been found. According to Day *et al.* (2008), the ascorbic acid could have increased the stability of black garlic polyphenols by reducing the phenoxyl radicals formed during oxidation, i.e. regenerating polyphenols.

4. Conclusions

The addition of the aqueous black garlic extracts in the conditions used in this experiment influences the colour of the patties, decreasing their lightness and increasing the red and yellow indices. The combination of ascorbic acid with black garlic extract increases the redness and yellowness after seven days of storage. The effect of black garlic extract on colour acceptability could be positive, although sensory analysis is needed to confirm the latter. Adding aqueous black garlic extract shows synergy with ascorbic acid in preventing lipid oxidation in cooked patties. The combination of 0.5 % black garlic extract and ascorbic acid amounts of 0.12 g/kg in the patty formulation showed optimal antioxidant activity in this study. Further research could test whether this antioxidant activity is maintained by decreasing the amount of black garlic and the effect of black garlic on the patty sensory properties.

Conflict of interest

There is no conflict of interest for the publication of these research results.

5. References

- Augustyńska-Prejsnar, A., Kačániová, M., Ormian, M., Topczewska, J., Sokołowicz, Z., & Hanus, P. (2024). Quality Assessment of Minced Poultry Products Including Black Fermented Garlic. *Foods*, 13(1), 70. <https://doi.org/10.3390/foods13010070>
- AMSA. (2012). <http://www.meatscience.org>
- Barido, F. H., Jang, A., Pak, J. I., Kim, Y. J., & Sung, S. K. (2022). Combined effects of processing method and black garlic extract on quality characteristics, antioxidative, and fatty acid profile of chicken breast. *Poultry Science*, 101(4): 101723. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101723>.
- Bellucci, E. R. B., Bis-Souza, C. V., Domínguez, R., Bermúdez, R., & Barretto, A. C. d. S. (2022). Addition of Natural Extracts with Antioxidant Function to Preserve the Quality of Meat Products. *Biomolecules*, 12(10): 1506. <https://doi.org/10.3390/biom12101506>
- Bruun-Jensen, L., Skovgaard, Ib M., Madsen, E. A., Skibsted, L. H., & Bertelsen, G. (1996). The combined effect of tocopherols, L-ascorbyl palmitate and L-ascorbic acid on the development of warmed-over flavour in cooked, minced turkey. *Food Chemistry*, 55(1): 41-47. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00070-4](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00070-4)
- Callejas-Cárdenas, A. R., Caro, I., Blanco, C., Villalobos-Delgado, L. H., Prieto, N., Bodas, R., Giráldez, F. J., & Mateo, J. (2014). Effect of vacuum ageing on quality changes of lamb steaks from early

- fattening lambs during aerobic display. *Meat Science*, 98(4): 646-651. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.036>
- Cirkovic Velickovic, T. D., & Stanic-Vucinic, D. J. (2018). The Role of Dietary Phenolic Compounds in Protein Digestion and Processing Technologies to Improve Their Antinutritive Properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1): 82-103. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12320>
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4): 169-186. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x>
- Choi, I. S., Cha, H. S., & Lee, Y. S. (2014). Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*, 19(10): 16811-16823. <https://doi.org/10.3390/molecules191016811>
- Dai, F., Chen, W. F., & Zhou, B. (2008). Antioxidant synergism of green tea polyphenols with α -tocopherol and l-ascorbic acid in SDS micelles. *Biochimie*, 90(10): 1499-1505. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2008.05.007>
- Dewi, N. N. A., & Mustika, I. W. (2018). Nutrition content and antioxidant activity of black garlic. *International Journal of Health Sciences*, 2(1): 11-20. <http://dx.doi.org/10.29332/ijhs.v2n1.86>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Agregán, R., & Lorenzo, J. M. (2017). Effect of the partial replacement of pork backfat by microencapsulated fish oil or mixed fish and olive oil on the quality of frankfurter type sausage. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 26-37. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2405-7>
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64: 171-181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>
- Habinshuti, I., Chen, X., Yu, J., Mukeshimana, O., Duhoranimana, E., Karangwa, E., Muhoza, B., Zhang, M., Xia, S., & Zhang, X. (2019). Antimicrobial, antioxidant and sensory properties of Maillard reaction products (MRPs) derived from sunflower, soybean and corn meal hydrolysates. *LWT*, 101: 694-702. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.083>
- Hygreeva, D., Pandey, M. C., & Radhakrishna, K. (2014). Potential applications of plant-based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat Science*, 98(1): 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.006>
- Karre, L., Lopez, K., & Getty, K. J. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*, 94(2) : 220-227. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.007>
- Kimura, S., Tung, Y. C., Pan, M. H., Su, N. W., Lai, Y. J., & Cheng, K. C. (2017). Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1): 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.003>
- Khlebnikov, A. I., Schepetkin, I. A., Domina, N. G., Kirpotina, L. N., & Quinn, M. T. (2007). Improved quantitative structure-activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(4): 1749-1770. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.11.037>
- Lee, H. J., Yoon, D. K., Lee, N. Y., & Lee, C. H. (2019). Effect of aged and fermented garlic extracts as natural antioxidants on lipid oxidation in pork patties. *Food Science of Animal Resources*, 39(4): 610-622. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6728816/>
- Min, B. R., Nam, K. C., Cordray, J. C., & Anh, D. U. (2008). Factors affecting oxidative stability of pork, beef, and chicken meat. *Iowa State University Animal Industry Report*, 5(1). https://doi.org/10.31274/ans_air-180814-1046
- Morrissey, P. A., Sheehy, P. J. A., Galvin, K., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, 49(1): S73-S86. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90039-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90039-0)

- Musci, M., & Yao, S. (2017). Optimization and validation of Folin–Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 68(8): 913–918. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1311844>
- Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2003). Effects of ascorbic acid and antioxidants on the color of irradiated ground beef. *Journal of Food Science*, 68(5): 1686-1690. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12314.x>
- Pérez-Palacios, T., & Estévez, M. (2020). Analysis of lipids and lipid oxidation products. In Biswas, A. K., & Mandal, P. K. (Eds.) *Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies*. (pp. 217-239). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00013-6>
- Santos, L. C. R., Santos, E. N. F., Oliveira, C. C., Nascentes, G. A. N., Saldaña, E., Bastos, L. M., Martins, M. M., Campagnol, P.C.B., Cunha, L. C. S., & Jardim, F. B. B. (2024). Black garlic extract: Phytochemical characterisation and application as natural antioxidant in burgers. *International Food Research Journal*, 31(3). <https://doi.org/10.47836/ifrj.31.3.14>
- Sampels, S. (2013). Oxidation and antioxidants in fish and meat from farm to fork. In Muzzalupo, I (Ed). *Food Industry*. Intech Open. <https://dx.doi.org/10.5772/53169>
- Sang, S., Cheng, X., Stark, R. E., Rosen, R. T., Yang, C. S., & Ho, C. T. (2002). Chemical studies on antioxidant mechanism of tea catechins: analysis of radical reaction products of catechin and epicatechin with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(7): 2233-2237. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(02\)00089-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(02)00089-5)
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B): 820-897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Škrovánková, S., Mlček, J., Snopek, L., & Planetová, T. (2018). Polyphenols and antioxidant capacity in different types of garlic. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1): 267–272. <https://doi.org/10.5219/895>
- Toledano-Medina, M. A., Pérez-Aparicio, J., Moreno-Rojas, R., & Merinas-Amo, T. (2016). Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. *Food Chemistry*, 199: 135-139. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.128>
- Yuan, H., Sun, L., Chen, M., & Wang, J. (2016). The comparison of the contents of sugar, amadori, and heyns compounds in fresh and black garlic. *Journal of Food Science*, 81(7): C1662-C1668. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13365>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Extracción de fibra dietaria de cáscara de naranja mediante microondas y método convencional: Propiedades macromoleculares y funcionales

Extraction of Dietary Fiber from Orange Peel Using Microwave and Conventional Method: Macromolecular and Functional Properties

Ricardo Montañez-Domínguez¹, Luz Araceli Ochoa-Martínez^{1*}, Juliana Morales-Castro¹, Silvia Marina González-Herrera¹

¹ Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Durango, Blvd. Felipe Pescador 1830 Ote., Durango, Dgo. C.P. 34080, México

*Correspondencia: aocchoa@itdurango.edu.mx (Luz Araceli Ochoa-Martínez)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1686>

Recibido: 02 de octubre de 2024; Aceptado: 16 de enero de 2025

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Miguel Ángel Sánchez-Madrigal

Resumen

La fibra dietaria (FD) es un conjunto de polímeros de carbohidratos esenciales para la salud humana presentes en alimentos de origen vegetal. Su consumo mejora el tránsito intestinal y puede contribuir a reducir los niveles de glucosa y colesterol en la sangre. El objetivo de este estudio fue comparar las propiedades macromoleculares y funcionales de la fibra dietaria soluble (FDS) e insoluble (FDI) extraída de la cáscara de naranja por dos métodos: el método ácido convencional y el método asistido por microondas, y compararla con fibra comercial. Los resultados mostraron que la extracción asistida por microondas mejoró significativamente el rendimiento de la FDS, logrando 24.33 ± 0.75 g/100 g, en comparación con 14.83 ± 0.73 g/100 g obtenido mediante el método ácido convencional. En cuanto a la FDI, no se encontraron diferencias significativas. Con ambos métodos de extracción, la FD presentó características macromoleculares propias. Con el uso de microondas la fibra presentó mejores propiedades funcionales, como la capacidad de hinchamiento, retención de agua, retención de aceite, y adsorción de colesterol y glucosa. En conclusión, el uso de microondas es un método más eficiente para obtener fibra dietaria de calidad, surgiendo como una alternativa para el aprovechamiento de la cáscara de naranja.

Palabras clave: fibra dietaria, microondas, propiedad funcional, extracción, cáscara de naranja

Abstract

Dietary fiber (DF) is a group of carbohydrate polymers essential for human health, found in plant-based foods. Its consumption improves intestinal transit and may help reduce blood glucose and cholesterol levels. The aim of this study was to compare the macromolecular and functional properties of soluble (SDF) and insoluble (IDF) fiber extracted from orange peel by two methods: the conventional acid and the microwave-assisted method, and to compare them with commercial fiber. The results showed that microwave-assisted extraction significantly improved SDF yield, achieving 24.33 ± 0.75 g/ 100 g compared to 14.83 ± 0.73 g/ 100 g obtained by the conventional acid method. For IDF, no significant differences were found. Both extraction methods produced fibers with their inherent macromolecular properties. The microwave-extracted fibers presented better functional properties such as swelling capacity, water retention, oil retention, and cholesterol and glucose adsorption. In conclusion, microwaves are more efficient for obtaining high-quality dietary fiber, offering an alternative to take advantage of the orange peel.

Keywords: dietary fiber, microwave, functional property, extraction, orange peel

1. Introducción

La fibra dietaria (FD) es un componente esencial de la alimentación humana, ampliamente reconocido por sus beneficios para la salud. Se define como polímeros de carbohidratos con al menos diez unidades monoméricas que no son hidrolizados por las enzimas del intestino delgado humano (Stribling, 2023). La FD se clasifica en fibra dietaria soluble (FDS) e insoluble (FDI), cada una con propiedades específicas que contribuyen a la salud intestinal y metabólica. Estas fibras no solo son fundamentales para la nutrición, sino también para la industria alimentaria, donde se valoran por su capacidad para mejorar la textura, estabilidad y funcionalidad de los productos procesados.

La FDS, presente en alimentos como avena, legumbres, frutas y verduras, tiene la capacidad de formar geles y aumentar la viscosidad del contenido intestinal. Esto ralentiza el vaciado gástrico y la absorción de glucosa, lo que ayuda a controlar los niveles de azúcar en sangre y colesterol. Además, actúa como un prebiótico al ser fermentada por bacterias intestinales, generando ácidos grasos de cadena corta que promueven la salud intestinal y reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Guan *et al.*, 2021; Soliman, 2019; Wu *et al.*, 2023; Bai *et al.*, 2022). Por otro lado, la FDI, abundante en cereales integrales, salvado de trigo y frutas con piel comestible, no se disuelve ni es fermentada de manera significativa. Su principal función es aumentar el volumen fecal, facilitar la motilidad intestinal y prevenir el estreñimiento (Emran *et al.*, 2022; Reynolds *et al.*, 2020).

Hoy en día, estas propiedades promotoras de la salud de la FD han abierto una gran demanda potencial de productos ricos en FD y han marcado una tendencia en la búsqueda de nuevas fuentes que podrían encontrar aplicación en la industria alimentaria. Entre estas fuentes destacan los cítricos, conocidos por su alto contenido de compuestos bioactivos y fibra dietaria, siendo las naranjas las líderes, con aproximadamente un 65 % de la producción mundial (Martínez-Jiménez *et al.*, 2020). En este contexto, la cáscara de naranja resalta como una fuente especialmente rica en fibra dietaria, conteniendo entre un 36 % y un 80 % de FD en base a peso seco (Tejada-Ortigoza *et al.*, 2016; Kute *et al.*, 2020). Este valor puede ser significativamente superior al de otros subproductos, como la cáscara de mango, que presenta porcentajes de fibra dietaria total entre el 30 % y el 35 %; la cáscara de limón,

con valores entre el 45 % y el 61 %; o la cáscara de toronja, que alcanza un 62 % (De Lourdes *et al.*, 2013; Gan *et al.*, 2020; Núñez-Gómez *et al.*, 2024), consolidando a la cáscara de naranja como un subproducto ideal para el desarrollo de productos funcionales y sostenibles en la industria alimentaria.

La mayoría de los cítricos se destinan a jugos frescos o bebidas envasadas. Derivado del proceso industrial de la naranja, la cáscara representa alrededor de la mitad de la masa de la naranja, siendo el principal subproducto generado. Los residuos provenientes de las industrias de procesamiento de cítricos son una buena fuente de FD (Ayala *et al.*, 2021; Benassi *et al.*, 2021). En la actualidad, uno de los métodos más utilizados para la extracción de FD es el método convencional ácido con calentamiento, que tiene la ventaja de ser de operación simple y bajo costo de preparación. Sin embargo, presenta varias desventajas, como la destrucción de la estructura química de los componentes, debido a los largos tiempos de exposición, lo que reduce la eficiencia de extracción y la calidad de la FD, afectando sus propiedades funcionales (Wolti-Chanes *et al.*, 2020).

El uso de tecnologías alternativas, como el microondas, cuyo principio se basa en ondas electromagnéticas de alta frecuencia para calentar y desestabilizar las estructuras celulares de los alimentos, podría mejorar la extracción de fibra dietaria al reducir el tiempo y la energía necesarios para el proceso, así como mejorar la pureza y la calidad del extracto (Kute *et al.*, 2020). Al respecto, Wongkaew *et al.* (2020) demostraron que la extracción asistida por microondas aplicada a la cáscara de mango no solo permitió reducir significativamente el tiempo de procesamiento e incrementar los rendimientos obtenidos, sino que también permitió obtener una fibra dietaria con mayor porosidad y mejores propiedades de rehidratación. Esto la hizo especialmente adecuada para su incorporación en productos como salchichas deshidratadas, donde dichas propiedades son cruciales para su funcionalidad y calidad final. Por ello, el objetivo de este estudio fue comparar las propiedades macromoleculares y funcionales de las fibras extraídas por dos métodos: el método ácido convencional y el método asistido por microondas, para obtener fibra dietaria soluble (FDS) e insoluble (FDI) a partir de cáscaras de naranja, permitiendo así analizar su calidad frente a las disponibles en el mercado.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

Las cáscaras de naranja resultantes del proceso de extracción de jugo de naranja se obtuvieron durante el período de octubre-noviembre del año 2023, mediante donaciones por parte de la microempresa Jugópolis, ubicada en la ciudad de Durango, Dgo., México. Los estándares de glucosa y colesterol se adquirieron de la empresa Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EE. UU.). El resto de los productos químicos y solventes empleados fueron grado reactivo y se utilizaron sin someterse a purificación adicional. La fibra insoluble comercial utilizada fue de la marca ZANA elaborada en Chihuahua, Chih. mientras que la pectina comercial se adquirió en la empresa Deiman, S.A. de C.V. de Ciudad de México.

2.2 Preparación de la materia prima

A las cáscaras de naranja obtenidas del proceso de extracción del jugo, se les retiraron los residuos de pulpa, semillas y otras fibras adheridas (bagazo), y se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10 %. Posteriormente, se cortaron longitudinalmente en tiras de 4 a 5 mm de ancho y se secaron en una secador de charolas (APEX, México) a 50 °C durante 5 horas. Después, se realizó una molienda utilizando una licuadora clásica (Oster, BLST4127, México), y finalmente se llevó a cabo un tamizado en malla No. 40, obteniendo un tamaño de partícula de 420 nm. Para la caracterización de la materia prima se determinó el contenido de FD, proteína, humedad y cenizas, de acuerdo con los métodos AOAC 991.43, 978.04, 930.04 y 930.05, respectivamente (AOAC, 2005).

2.3 Extracción convencional

La extracción ácida convencional de fibra dietaria se realizó siguiendo el protocolo descrito por Kute *et al.* (2020). Se agregaron 10 g de polvo de cáscara de naranja a 400 mL de agua destilada, ajustando el pH a 2 mediante la adición de HCl al 5 %. La mezcla se calentó con agitación a 70 °C durante 2 horas. Después se llevó a cabo una filtración utilizando papel filtro (Whatman No. 1), separando el filtrado del residuo. El residuo fue enjuagado con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro y se secó para obtener la fibra dietaria insoluble. Por otra parte, el filtrado fue neutralizado mediante la adición de una solución de NaOH al 5 %, después se concentró a 100 mL bajo presión reducida en un rotavapor (Hahnshin, HS-2000NS, República de Corea) a 60 °C, y se añadieron 100 mL de etanol al 95 % para la precipitación de la FDS. El precipitado se refrigeró a 4 °C durante 24 h, y se separó por centrifugación (Hermile, Corning LSE, Alemania) a 4185 x g durante 15 minutos con dos lavados con etanol al 95 %. Por último, ambos componentes se secaron en una estufa (Riossa, H-48, USA) a 50 °C por 24 h, obteniendo las muestras C-FDS (fibra soluble extraída de forma convencional) y C-FDI (fibra insoluble extraída de forma convencional). Este procedimiento se realizó por triplicado. El contenido de proteína, humedad y cenizas se determinó de acuerdo con los métodos descritos en el punto 2.2.

2.4 Extracción asistida con microondas

Para este proceso se utilizó un equipo de microondas (LG, MJ1481BP/00, Corea del Sur), en donde a través de experimentos preliminares utilizando un diseño de optimización Box-Behnken, se determinaron las condiciones óptimas para la extracción de fibra a partir de cáscara de naranja. En este diseño, se evaluaron los siguientes factores y niveles: potencia del microondas (900 W, 720 W y 540 W), tiempo de extracción (8 minutos, 5:30 minutos y 3 minutos) y pH del medio (1, 2 y 3). A partir del resultado de los preliminares, se fijaron las condiciones de 900 W, tiempo de 3 min y pH de 1 el cual se ajustó con una solución de HCl al 5 %. En 400 mL de agua destilada se añadieron 10 g de polvo de cáscara de naranja y se aplicaron las condiciones seleccionadas de 900 W, 3 min y pH de 1. Una vez aplicadas estas condiciones, la mezcla se filtró a vacío, utilizando papel filtro (Whatman No. 1), separando el residuo del filtrado. A partir de aquí, tanto el residuo como el filtrado se procesaron de igual forma que para la extracción convencional (apartado 2.3), obteniendo las muestras M-FDS (fibra soluble extraída por microondas) y M-FDI (fibra insoluble extraída por microondas). Este

procedimiento se realizó por triplicado. El contenido de proteína, humedad y cenizas se determinó de acuerdo con los métodos descritos en el punto 2.2.

2.5 Propiedades macromoleculares

2.5.1 Microestructura y propiedades morfológicas (SEM)

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido (Hitachi, modelo SU3500, Tokio, Japón) para observar la microestructura y morfología de la FD. Las muestras se colocaron en un soporte de muestra con cinta adhesiva de doble cara y se cubrieron con una capa de oro mediante pulverización, posteriormente se observó cada muestra con aumentos de 100X a 1000X y un voltaje de aceleración de 15.0 kV.

2.5.2 Análisis molecular (FTIR)

La obtención del espectro con el patrón de la información estructural FTIR de las muestras, se llevó a cabo utilizando un espectrómetro FTIR Vertex 70v (Perkin Elmer, EE.UU.), acoplado con un accesorio de tecnología ATR (reflexión total atenuada). Todos los resultados fueron procesados utilizando el software OPUS 7.2. Se mezcló una muestra con polvo de bromuro de potasio (KBr) en proporción de 1:100 (v/v) y se prensaron en forma de pastillas. Los espectros fueron medidos en el rango de frecuencia de 4500 a 500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} .

2.5.3 Estructura cristalina (XRD)

La estructura de la FDI y FDS se analizó mediante un difractómetro de rayos X (XRD-6100, Shimadzu, Japón) con voltaje de trabajo de 40 kV y una corriente incidente de 40 mA. La región para el escaneo del ángulo de difracción (2θ) abarcó a partir de 5 hasta 55 grados, con velocidad de escaneo de $2^\circ/\text{min}$.

2.6 Propiedades funcionales

2.6.1 Solubilidad en agua (SA)

La SA de las muestras de FD se determinó según el método descrito por Dong *et al.* (2020). Una muestra de 0.1 g (m) de FD se mezcló con 5 mL de agua destilada. La mezcla se agitó a 90°C durante 30 minutos en baño María, posteriormente se realizó una centrifugación a $2790 \times g$ durante 15 minutos. Se recogió, secó y pesó el sobrenadante (m1). El índice de solubilidad se calculó a partir de la Ec. (1).

$$\text{SA (\%)} = 100 \times \frac{m1}{m} \quad \text{Ec. (1)}$$

2.6.2 Capacidad de hinchamiento (CH)

La CH se determinó utilizando el método de Zhang *et al.* (2011) con ligeras modificaciones. Se colocó una muestra de 0.3 g (m) de FD en un tubo de ensayo, se registró el volumen original (v1) y se añadieron 5 mL de agua. Se hidrató durante 24 horas a 25 °C, y se registró el volumen final (v2) de la fibra hinchada. Luego, se calculó la CH utilizando la Ec. (2).

$$CH \text{ (mL/g)} = \frac{v2-v1}{m} \quad \text{Ec. (2)}$$

2.6.3 Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito por Liu *et al.* (2022). Primero, se añadió 1 g (m1) de muestra de FD a 25 mL de agua destilada a temperatura ambiente (25 °C) y se dejó en reposo durante 1 hora. Después se centrifugó a 3348 x g durante 10 min, los residuos se extrajeron y pesaron (m2). Finalmente, la CRA se determinó mediante la Ec. (3).

$$CRA \text{ (g/g)} = \frac{m2-m1}{m1} \quad \text{Ec. (3)}$$

2.6.4 Capacidad de retención de aceite (CRAC)

Se empleó un método modificado de Liu *et al.* (2022), en el cual se agregó 1 g (m1) de muestra de FD a 25 mL de aceite de soja durante 2 h. Después se centrifugó a 3348 x g durante 10 min, los residuos se extrajeron y pesaron (m2). El CRAC se calculó utilizando la Ec. (4).

$$CRAC \text{ (g/g)} = \frac{m2-m1}{m1} \quad \text{Ec. (4)}$$

2.6.5 Capacidad de adsorción de colesterol (CAC)

La CAC de las muestras de DF se determinó mediante el método de o-ftalaldehído descrito por Qiao *et al.* (2021) con ligeras modificaciones. Se preparó una solución de yema de huevo y agua destilada (1:9, v/v). Se añadieron 0.5 g de la muestra de FD (m) a 25 mL de la solución de yema diluida, y se ajustó el pH de la mezcla a pH 2.0, seguido de una incubación a 37 °C en un baño de agua con agitación durante 2 horas. Se utilizó una solución de yema diluida sin la muestra de DF, como blanco. La mezcla se centrifugó a 2790 x g durante 10 minutos y se midió la absorbancia del sobrenadante a 550 nm. El contenido de colesterol en la yema diluida que contiene FD se registró como m2 y en la yema diluida sin FD como m1. La CAC se calculó con la Ec (5).

$$CAC \text{ (mg/g)} = \frac{m1 - m2}{m} \quad \text{Ec. (5)}$$

2.6.6 Capacidad de adsorción de glucosa (CAG)

El CAG se determinó utilizando el método de Tan *et al.* (2024) con ligeras modificaciones. Se mezclaron 0.25 g (m) de FD con 50 mL (v) de una solución de glucosa (100 mmol/L) (C_1) y se incubaron a 37 °C durante 2 horas. Luego, la mezcla se centrifugó a 2790 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente. La concentración de glucosa en el sobrenadante (C_2) se midió mediante el método DNS. La capacidad de adsorción de glucosa (mmol/g) se calculó utilizando la Ec. (6).

$$\text{CAG (mmol/g)} = (C_1 - C_2) \times \frac{v}{m} \quad \text{Ec. (6)}$$

2.6.7 Análisis estadístico

Los datos experimentales se analizaron utilizando el software estadístico Minitab versión 19.1. Los resultados se expresaron como media $\pm$ DE. Para determinar el efecto de las variables independientes o factores sobre las respuestas, se empleó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), considerando como significativo $p < 0.05$. Posteriormente, las diferencias entre los grupos experimentales se evaluaron mediante el método de comparaciones múltiples de medias de Tukey.

3. Resultados y discusión

3.1 Caracterización de la cáscara de naranja

La composición proximal de la cáscara de naranja en base a peso seco (p/p, %) fue la siguiente: FDI 53.26 ± 3.50 %, FDS 26.45 ± 0.89 %, proteína 4.76 ± 0.08 %, humedad 7.12 ± 0.76 % y cenizas 4.49 ± 0.08 %. Estos resultados evidencian la gama de componentes valiosos que aún contiene la cáscara de naranja y que justifica su aprovechamiento para recuperarlos, para su uso como ingredientes en la industria alimentaria. En comparación, Kute *et al.* (2020) reportaron valores similares con un contenido de humedad de 8.33 ± 1.14 %, cenizas de 4.50 ± 0.18 %, proteína de 5.6 ± 0.16 % y un contenido de fibra total de 81.06 ± 0.9 %.

3.2 Efecto del método de Extracción

3.2.1 Rendimientos de extracción y composición química de FDI y FDS

En la Tabla 1 se presenta el análisis proximal y los rendimientos de extracción de fibra dietaria soluble e insoluble obtenidos tanto por el método convencional como el de microondas. Los resultados indican diferencias significativas en los rendimientos de la fibra dietaria soluble entre ambos métodos. Sin embargo, no se observan diferencias significativas en los contenidos de humedad, proteína y ceniza, tanto en las fracciones de fibra solubles como insolubles. Se observó que el contenido de FDS en la extracción convencional fue significativamente menor en comparación con la extracción asistida por microondas, lo que sugiere una mayor liberación de FDS con el uso de microondas. Es probable que los tratamientos con microondas rompieran de manera más eficiente la

pared celular, facilitando la conversión de FDI a FDS. Junto a ello, también largos tiempos en la solución ácida en el método convencional, posiblemente ocurrió una destrucción de polisacáridos, debido a la acción que tiene el ácido en los grupos glucosídicos, hidrolizando la FDS en oligosacáridos y monosacáridos (Kratchanova *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2022). Por otra parte, al comparar el contenido de FDI obtenido mediante el método convencional con el extraído por microondas, no se encontraron diferencias significativas. Los resultados obtenidos en este estudio fueron ligeramente superiores al rango reportado por Huang *et al.* (2021), que oscilaba entre 40.95 y 53.79 % de FDI a partir de diversos tratamientos para la extracción de fibra dietaria de cáscara de naranja. Esto sugiere una buena liberación de FDS sin degradación de la FDI en el estudio.

Tabla 1. Rendimiento de extracción y composición de las muestras de fibra dietaria (g/100 g en base seca).

Table 1. Extraction yield and composition of dietary fiber samples (g/ 100 g dry basis).

	FDS		FDI	
	Microondas	Convencional	Microondas	Convencional
Rendimiento	24.33 ± 0.75 ^a	14.83 ± 0.73 ^b	54.25 ± 0.57 ^a	55.10 ± 0.67 ^a
Humedad	7.6 ± 0.28 ^a	7.75 ± 0.35 ^a	6.1 ± 0.14 ^a	6.05 ± 0.21 ^a
Proteína	5.35 ± 0.34 ^a	5.54 ± 0.41 ^a	4.86 ± 0.58 ^a	5.44 ± 0.54 ^a
Ceniza	3.24 ± 0.29 ^a	3.40 ± 0.63 ^a	4.79 ± 0.44 ^a	5.01 ± 0.16 ^a

Los datos son medias ± DE de mediciones por triplicado. Letra superíndice diferente indica diferencia significativa ($p < 0.05$) en comparaciones por filas, determinadas mediante la prueba de Tukey.

3.3 Propiedades macromoleculares

3.3.1 Microestructura y propiedades morfológicas (SEM)

La microestructura de la FDS y FDI de la cáscara de naranja se observa en la Fig. 1. La superficie de la M-FDS mostró una textura rugosa con pocos vacíos y fragmentos irregulares, en comparación con la C-FDS, que exhibió una estructura relativamente plana y suelta con ciertos espacios entre las fibras. Por otro lado, tanto la M-FDS como la C-FDS presentó una estructura de red celular irregular con numerosas grietas y pequeños grupos, lo cual podría estar relacionado con la destrucción de celulosa y hemicelulosa provocada por los métodos de extracción y las condiciones de procesamiento.

En cuanto a la microestructura de la fracción de FDI, las imágenes de SEM de C-FDI y M-FDI revelaron una masa irregular a 100X de aumento. A 1000X de aumento, se observó una estructura rugosa e irregular, siendo más pronunciada en la C-FDI. Esto puede deberse a la potente actividad oxidativa y la fuerza destructiva del HCl, que causó daños significativos durante el prolongado proceso de extracción, resultando en una estructura más deteriorada en comparación con la M-FDI. Los resultados sugieren que los diferentes métodos de procesamiento pueden afectar las microestructuras de las muestras de FDI.

La microestructura de la fibra dietaria está estrechamente relacionada con sus propiedades funcionales. Se ha observado que una estructura más porosa y rugosa mejora la CH, CRA y CRAC, así como su CAG Y CAC (Yan *et al.*, 2019; Gan *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2021). En este sentido, se observa que la mayor rugosidad y porosidad de la M-FDS, en comparación con la C-FDS, podría traducirse en una mejor retención de agua y aceite, así como una mayor adsorción de colesterol y glucosa. Por otro lado, la estructura más deteriorada de la C-FDI podría limitar estas propiedades funcionales en relación con la M-FDI. Esto sugiere que los tratamientos con microondas pueden mejorar las propiedades funcionales al alterar favorablemente la microestructura, incrementando la superficie efectiva y la interacción con líquidos y compuestos específicos.

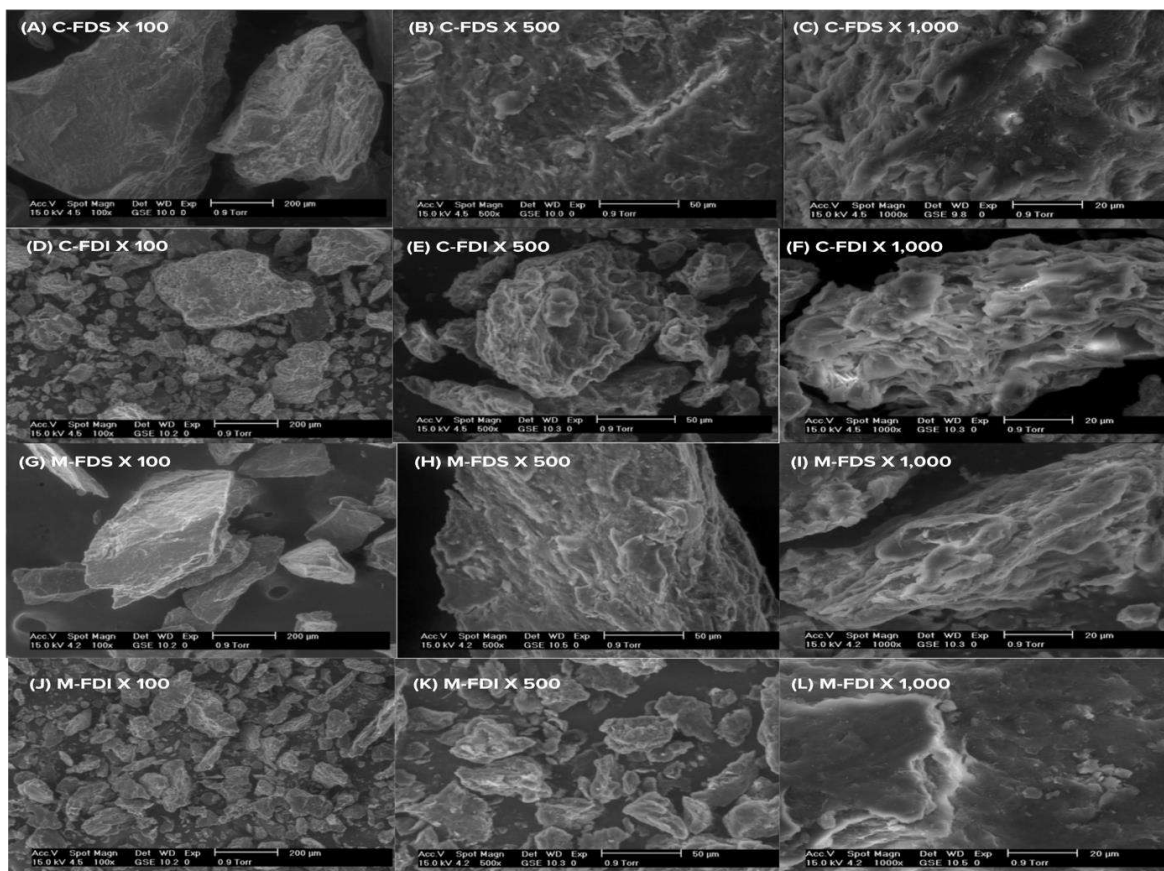


Figura 1. Micrografías SEM de FDS extraída mediante método convencional (A, B, C) y asistida por microondas (G, H, I), así como FDI extraída mediante método convencional (D, E, F) y asistida por microondas (J, K, L) a diferentes grados de aumento.

Figure 1. SEM micrographs of FDS extracted using conventional method (A, B, C) and microwave-assisted methods (G, H, I), as well as FDI extracted using conventional method (D, E, F) and microwave-assisted method (J, K, L) at different magnifications.

3.3.3 Análisis molecular (FTIR)

Los resultados de FTIR de la FD de la cáscara de naranja se muestran en la Fig. 2. En general, las muestras presentaron espectros IR bastante similares, con características espectroscópicas típicas

de los polisacáridos. No obstante, se observaron algunas variaciones en las intensidades y posiciones de los picos de varias bandas características. Todas las muestras mostraron señales fuertes alrededor de 3322 cm^{-1} , indicando vibraciones de los enlaces de hidrógeno, principalmente asociados con los grupos hidroxilo de los polisacáridos. Los picos de absorción alrededor de 2918 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} correspondieron a las bandas de estiramiento C-H de los grupos $-\text{CH}$ o $-\text{CH}_2$ de los polisacáridos. El pico de absorción cercano a 1600 cm^{-1} correspondió a la vibración de flexión O-H característica del agua adsorbida. La intensidad de algunos picos varió según el método de extracción, lo que podría atribuirse a la ruptura de los enlaces de hidrógeno intermoleculares de los polisacáridos. El pico de absorción alrededor de 1733 cm^{-1} correspondió a la vibración de estiramiento del C=O en los grupos carboxilo ($-\text{COOH}$).

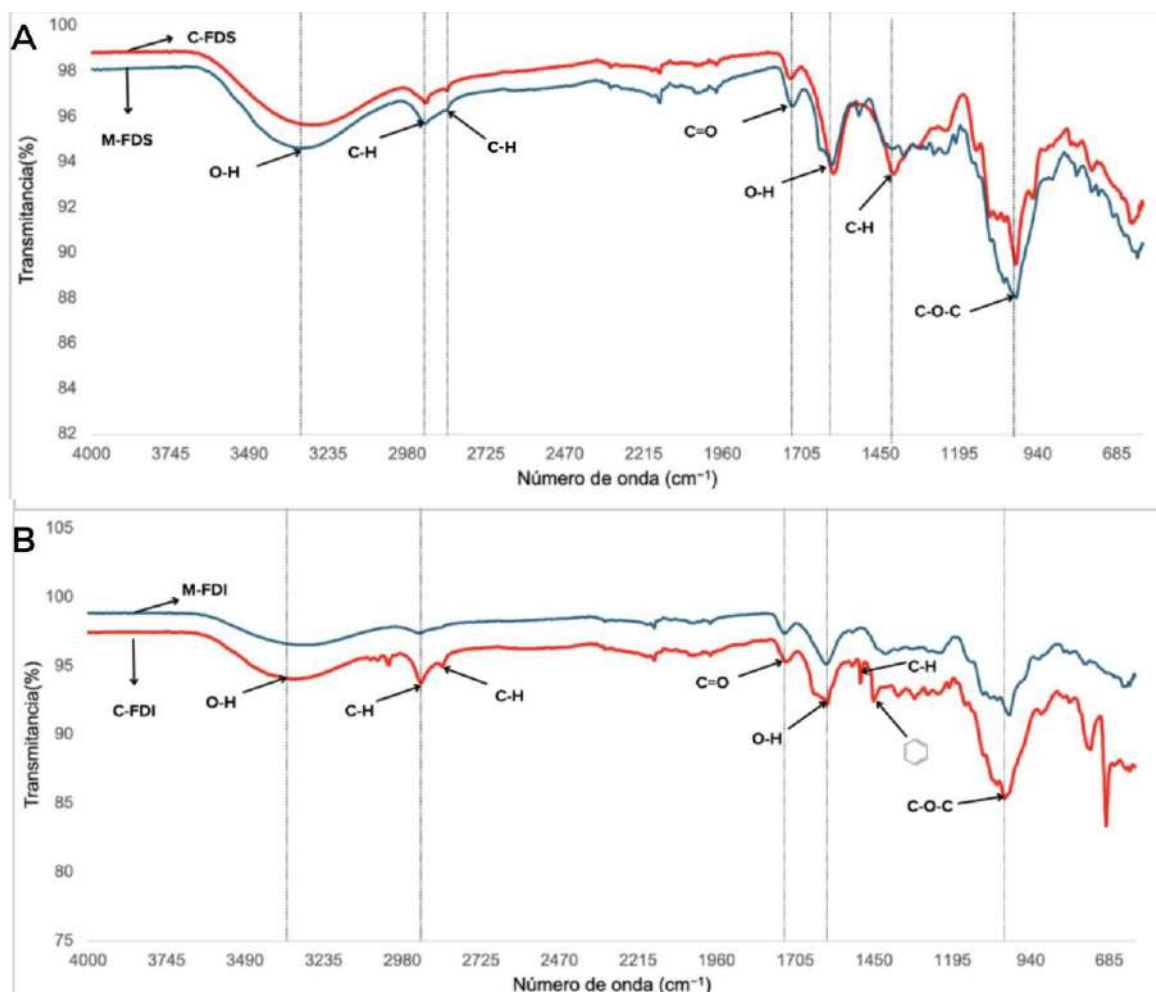


Figura 2. Espectros FTIR para FDS (A) y FDI (B) extraída de forma convencional (C-FDS y C-FDI) y por microondas (M-FDS y M-FDI).

Figure 2. FTIR spectra for FDS (A) and FDI (B) extracted conventionally (C-FDS and C-FDI) and by microwave (M-FDS and M-FDI).

Las intensidades de los picos alrededor de 1500 cm^{-1} fueron características de las vibraciones de estiramiento de los anillos aromáticos en la lignina. Estas intensidades fueron notorias en la C-FDI,

pero casi ausentes en la M-FDI y en las fibras dietarias solubles, lo que indica que el contenido de lignina es elevado en la FDI extraída de forma convencional, pero casi inexistente en las FDS. Además, el método de microondas generó una mayor hidrólisis de la lignina. El pico de absorción cercano a 1050 cm^{-1} fue característico de la vibración de estiramiento C-O de C-O-C en las unidades de azúcar del xilano (Wang *et al.*, 2022). Las intensidades de los picos alrededor de 1050 cm^{-1} fueron relativamente fuertes en la FDI y en las C-FDS, pero relativamente débiles en la M-FDI, lo que indica un contenido relativamente bajo de xilano.

3.3.4 Estructura cristalina (XRD)

En la Fig. 3 se presentan los diagramas de difracción de rayos X de la FD. En la Fig. 3 (A), se observa que los picos de difracción de las muestras de FDS fueron diferentes a los de las muestras de FDI. Los patrones de XRD revelaron que la estructura principal de las muestras de FDS de la cáscara de naranja es amorfa, lo cual concuerda con las características típicas de ese tipo de fibra (Li *et al.*, 2022). La cristalinidad de la C-FDI fue mayor en comparación con la M-FDI como se muestra en la Fig. 3 (B), lo cual podría atribuirse a que hubo una mayor reducción del contenido de lignina (Ma *et al.*, 2016).

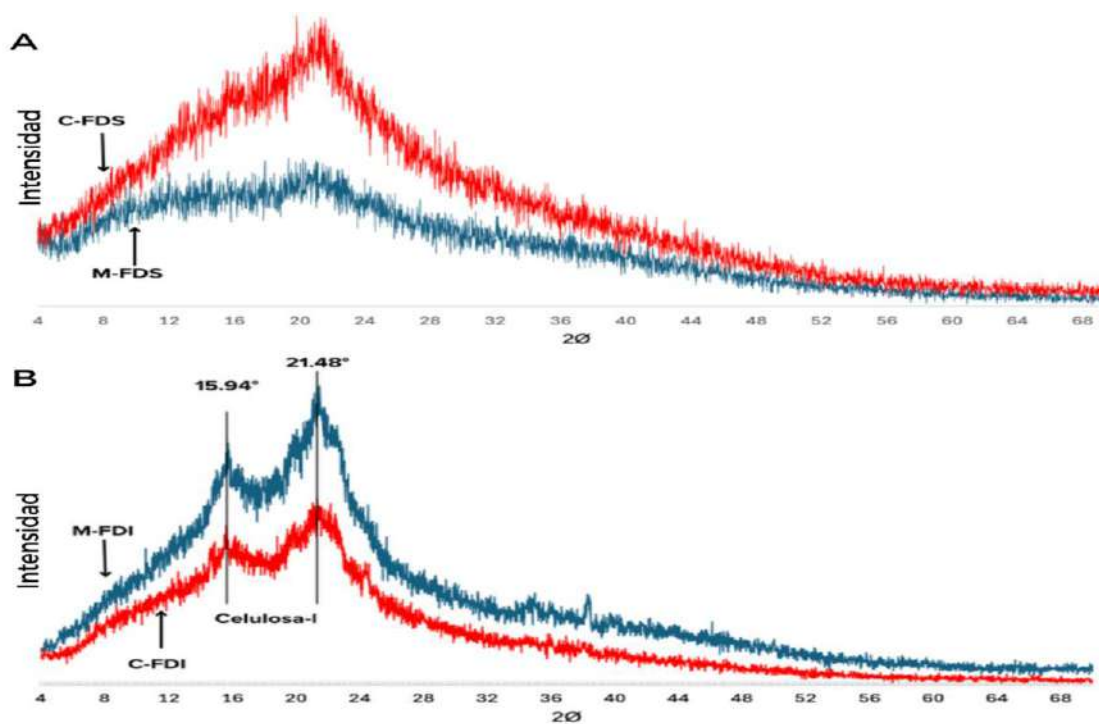


Figura 3. Diagramas de difracción de rayos X para FDS (A) y FDI (B) extraída de forma convencional (C-FDS y C-FDI) y por microondas (M-FDS y M-FDI).

Figure 3. X-ray diffraction diagrams for FDS (A) and FDI (B) extracted conventionally (C-FDS and C-FDI) and by microwave (M-FDS and M-FDI).

Al mismo tiempo, se observó que las FDI exhibieron un pico de difracción prominente a 21.48° junto con un pico de difracción menor de 15.94° en 2θ , lo cual sugiere la posible presencia de estructuras cristalinas en forma de celulosa tipo I (Ma *et al.*, 2021). Este patrón observado indica un grado similar de cristalinidad, probablemente porque las condiciones de extracción tanto convencional como asistida con microondas tuvieron poco impacto en la zona de cristalización de la FDI. Una menor cristalinidad en la FD puede mejorar su elongación y suavidad, mientras que una mayor cristalinidad puede mejorar la estabilidad térmica de las fibras cítricas (Huang *et al.*, 2021).

3.4 Propiedades funcionales

3.4.1 Solubilidad en agua

Los resultados de solubilidad en agua de la FD se presentan en la Fig. 4 (A). Una alta solubilidad en agua indica que la fibra se disuelve fácilmente, evitando formación de grumos y generando un gel con mejor viscosidad en el tracto digestivo, contribuyendo a la reducción del apetito (Dong *et al.*, 2020). La FD mostró diferencias significativas en la solubilidad, siendo mayor en M-FDS ($84 \pm 3.2\%$), en C-FDS ($77.92 \pm 2.25\%$) y en la pectina comercial ($79.73 \pm 0.095\%$). En cuanto a FDI, los valores obtenidos fueron $5.53 \pm 1.53\%$ para M-FDI, $16.4 \pm 1.50\%$ para C-FDI y 5.92% para la FDI comercial. Se observaron diferencias significativas en la FDI obtenida mediante el método convencional en comparación con las otras dos. Un bajo índice de solubilidad, indica que la fibra no se disuelve en agua, lo cual es lo que se espera de la fibra insoluble. Este tipo de fibra mantiene su estructura a lo largo del tracto digestivo, lo que es necesario para mejorar el tránsito intestinal al aumentar el volumen fecal y prevenir el estreñimiento (Soleimanian *et al.*, 2022). La mayor solubilidad observada en FDI extraída mediante el método convencional, en comparación con el método de microondas, sugiere que pudo haber sufrido un daño estructural debido a los tiempos prolongados de extracción, la temperatura y el pH, haciendo que esta sea más propensa de transformar sus polisacáridos en oligosacáridos solubles (Wang *et al.*, 2022).

3.4.2 Capacidad de hinchamiento

Los resultados de la CH se muestran en la Fig. 4 (B). La CH de la FD se refiere a su habilidad para absorber agua y expandirse, aumentando así su volumen, indicando cuánta agua puede retener una fibra, influyendo en la textura y funcionalidad de los alimentos. Por ejemplo, una mayor capacidad de hinchamiento puede aumentar la viscosidad y la capacidad de formar geles, lo que es crucial para la consistencia y estabilidad de productos como salsas, pudines y productos de panadería (Soleimanian *et al.*, 2022). La CH de las muestras de FD fue significativamente mayor en las muestras extraídas mediante microondas. La M-FDS mostró una CH con valor de 10.40 ± 0.35 mL/g, mientras que para la M-FDI alcanzó un valor de 8.87 ± 0.29 mL/g. Los valores de CH de la FD extraída de manera convencional, tanto para la fracción soluble como insoluble, mostraron diferencias significativas en comparación con la fibra dietaria comercial. Los valores obtenidos fueron 8.18 ± 0.25 mL/g (C-FDS), 7.66 ± 0.19 mL/g (C-FDI), 5.11 ± 0.19 mL/g (pectina comercial) y 2.11 ± 0.19 mL/g (fibra insoluble comercial). La extracción de FDS mediante microondas fue ligeramente superior a las reportadas por Khanpit *et al.* (2023), que se sitúan entre 7.24 y 9.85 mL/g. Este resultado puede atribuirse a que el tratamiento con microondas debilita la estructura interna de las fibras de naranja y rompe los enlaces de hidrógeno, lo cual podría favorecer el aumento de la capacidad de hinchamiento.

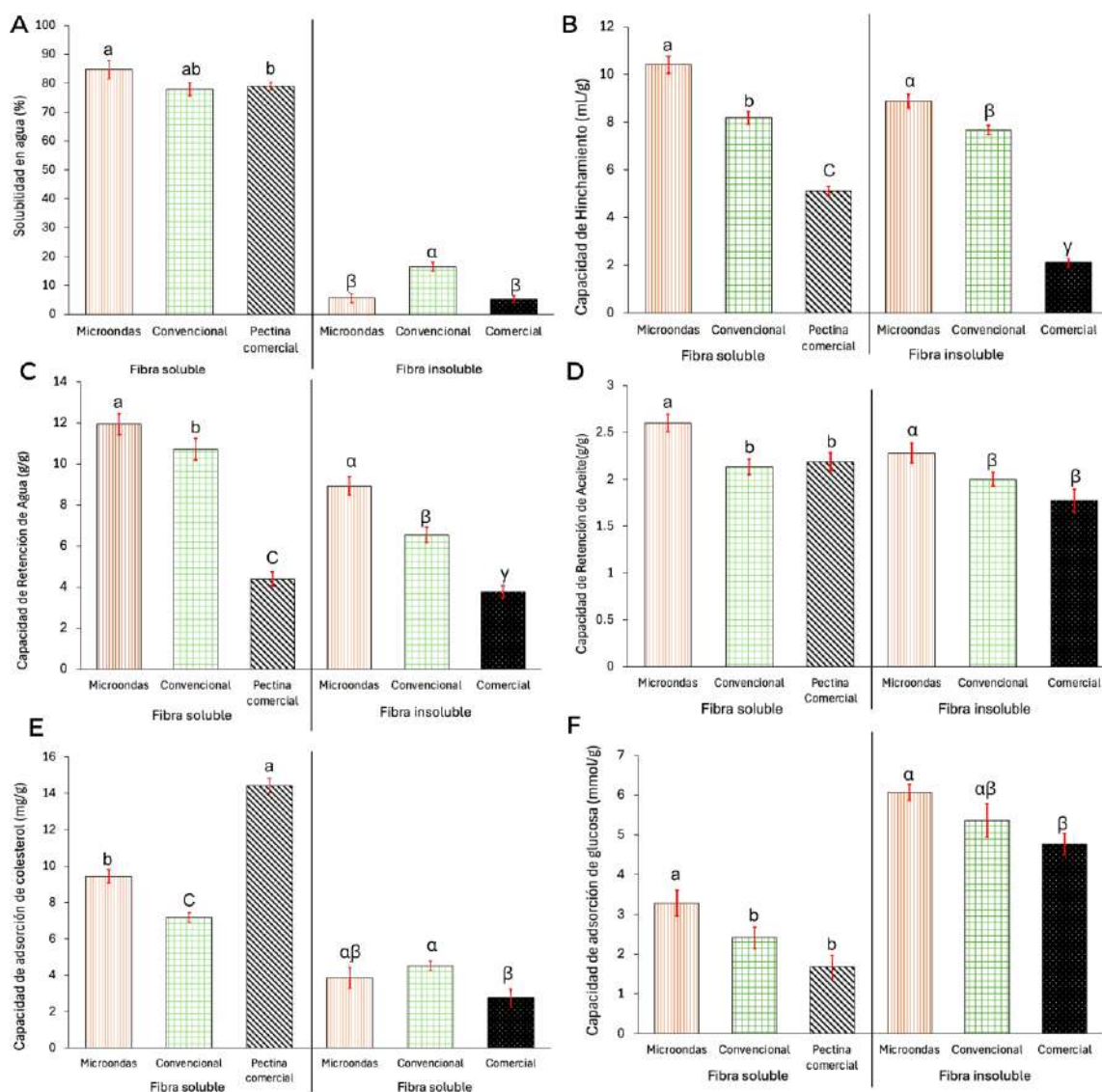


Figura 4. Propiedades funcionales de la FDS y FDI. A: Solubilidad en agua. B: capacidad de hinchamiento. C: capacidad de retención de agua. D: capacidad de retención de aceite. E: capacidad de adsorción de colesterol. F: capacidad de adsorción de glucosa. Los resultados se muestran como el promedio $\pm$ desviación estándar. Los tratamientos con letras diferentes denotan diferencias significativas. Letras latinas indican las diferencias entre métodos respecto a FDS, mientras que las letras griegas muestran las diferencias en relación con FDI (Tukey, $p < 0.05$, $n=3$).

Figure 4. Functional properties of FDS and FDI. A: Water solubility. B: Swelling capacity. C: Water holding capacity. D: Oil holding capacity. E: Cholesterol adsorption capacity. F: Glucose adsorption capacity. The results are presented as mean $\pm$ standard deviation. Treatments with different letters denote significant differences. Latin letters indicate differences between methods for FDS, while Greek letters show differences for FDI. (Tukey, $p < 0.05$, $n=3$).

3.4.3 Capacidad de retención de agua

Los resultados de la CRA se muestran en la Fig. 4 (C). La CRA es un indicador que muestra la capacidad de la FD para absorber y mantener la humedad. Valores elevados de CRA proporcionan una textura más densa y una mayor estabilidad a los productos alimenticios (Dong *et al.*, 2020). La CRA de la FD depende principalmente del número y la naturaleza de los sitios de unión al agua, así como de la microestructura de la FD (Zhou *et al.*, 2023). La CRA de las muestras de FD fue significativamente mayor en las muestras de FDS y FDI extraídas mediante microondas. El M-FDS presentó la CRA más alta para la fibra soluble, con un valor de 11.94 ± 0.52 g/g, mientras que, para la fibra insoluble, el M-FDI alcanzó un valor de 8.92 ± 0.46 g/g.

Los valores de la CRA de la fibra dietaria extraída de manera convencional, tanto para la fracción soluble como insoluble, mostraron diferencias significativas en comparación con las muestras comerciales con valores de 10.71 ± 0.54 g/g (C-FDS), 6.54 ± 0.37 g/g (C-FDI), 4.39 ± 0.34 g/g (pectina comercial) y 3.76 ± 0.27 g/g (FDI comercial). Grigelmo-Miguel y Martoín-Belloso (1999), realizaron una caracterización exhaustiva de la fibra dietaria soluble (FDS) obtenida a partir de diferentes variedades de naranja mediante métodos convencionales, reportando valores de CRA entre 7.30 y 10.32 g/g, similares a los de la extracción convencional en este estudio. Para la FDI, Khanpit *et al.* (2023) reportaron valores de 6.10 a 10.19 g/g. Estos resultados indican que la extracción asistida por microondas en este estudio muestra una mejor CRA. Esto puede deberse a que las ondas electromagnéticas exponen sitios hidrofílicos y grupos químicos adicionales, lo que incrementa la porosidad de la fibra y su hidrofiliidad (Baskaya-Sezer, 2023).

3.4.4 Capacidad de retención de aceite

Los resultados de la CRAC se muestran en la Fig. 4 (D). La CRAC muestra la cantidad de aceite o grasa que la FD puede absorber y retener físicamente, reduciendo así su absorción durante la digestión. La FD con altos valores de CRAC podrían actuar como sustitutos de la grasa en la industria alimentaria, ofreciendo una alternativa más saludable a los productos tradicionales con alto contenido graso (He *et al.*, 2022). El CRAC de la FD varía según el tipo de fibra, sus propiedades y el método de extracción utilizado, siendo mayor cuando la fibra presenta mejor porosidad y rugosidad. La CRAC de las muestras de FD fue significativamente mayor en las muestras de FDS y FDI que fueron extraídas por microondas. El M-FDS mostró la CRAC más alta para la fibra soluble, con un valor de 2.6 ± 0.09 g/g, mientras que, para la fibra insoluble, el M-FDI tuvo un valor de $0.10 \pm$ g/g. Los valores de CRAC para la fibra dietaria extraída convencionalmente, tanto en las fracciones soluble como insoluble, no mostraron diferencias significativas en comparación con la fibra dietaria comercial. Los valores obtenidos fueron 2.13 ± 0.08 g/g (C-FDS), 2.00 ± 0.07 g/g (C-FDI), 2.18 ± 0.09 g/g (pectina comercial) y 1.62 ± 0.06 g/g (fibra insoluble comercial). Estos valores son similares a los reportados por Huang *et al.* (2021) para fibra soluble, que fue de 2.12 ± 0.046 g/g, así como a los valores de Khanpit *et al.* (2023), que oscilaron entre 1.63 y 2.4 g/g.

3.4.5 Capacidad de adsorción de colesterol

Los resultados de la CAC se muestran en la Fig. 4 (E). El colesterol es un lípido del cuerpo humano necesario para su correcto funcionamiento, pero en cantidades excesivas es perjudicial para

la salud. Un incremento en los niveles de colesterol, especialmente las lipoproteínas de baja densidad, se acumula en las arterias, lo que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares, accidentes cerebrovasculares y enfermedades relacionadas con la mala circulación, como la enfermedad arterial periférica (He *et al.*, 2022). Uno de los beneficios más importantes de la FDS, es su capacidad para reducir los niveles de colesterol plasmático. En las muestras analizadas, la CAC de la FD fue superior en las muestras de fibra soluble obtenidas mediante extracción asistida por microondas (9.42 ± 0.35 mg/g) en comparación con la de extracción convencional (7.17 ± 0.26 mg/g), aunque inferior a la pectina comercial (14.41 ± 0.39 mg/g). Este resultado podría explicarse por el hecho de que, en condiciones ácidas, la fibra comercial muestra una mayor viscosidad, lo que facilita la adsorción de colesterol. Por otro lado, la CAC de la fibra insoluble no mostró diferencias significativas entre la extracción asistida por microondas (3.85 ± 0.56 mg/g) y la extracción convencional (4.51 ± 0.25 mmol/g). Sin embargo, la fibra insoluble comercial sí presentó diferencias significativas en comparación con la fibra obtenida por extracción convencional, con valores de 2.74 ± 0.52 mg/g.

3.4.6 Capacidad de adsorción de glucosa

Los resultados de la CAG se muestran en la Fig. 4 (F). En alimentos, la CAG de la FD varía de 0.17 mmol/g a 4.65 mmol/g. Los estudios se enfocan en la FD vegetal, y la CAG de la FD está relacionado con el metabolismo de la glucosa, porque la FD puede absorber azúcares y producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por fermentación, ayudando a prevenir la diabetes (Yang *et al.*, 2022). La CAG de las muestras de FD fue mayor en las muestras de FDI en comparación con las de FDS como se observa en la Fig. 4 (F), igual a lo reportado por Wang *et al.* (2021). La CAG de M-FDI (6.07 ± 0.20 mmol/g) no mostró diferencias significativas en comparación con el C-FDI (5.36 ± 0.41 mmol/g), pero sí en comparación con la fibra comercial. Los valores de la CAG de la FDS mostraron diferencias significativas en la extracción asistida por microondas en comparación con la fibra extraída de forma convencional y la pectina comercial, con valores de 3.28 ± 0.32 mmol/g, 2.41 ± 0.26 mmol/g y 1.68 ± 0.28 mmol/g, respectivamente.

4. Conclusiones

La extracción de fibra dietaria a partir de cáscara de naranja con microondas resultó ser más eficiente, ya que se obtuvo un rendimiento de extracción de 24.33 ± 0.75 g/100 g en comparación con 14.83 ± 0.73 g/100 g obtenidos por el método convencional. La fibra obtenida por ambos métodos mostró propiedades macromoleculares óptimas; sin embargo, el uso de microondas destacó por ofrecer resultados superiores. Igualmente, las propiedades funcionales presentaron mejores valores cuando se utilizó microondas. Este estudio destaca el uso de microondas como una alternativa prometedora para obtener fibra dietética de alta calidad a partir de la cáscara de naranja, contribuyendo a su potencial valorización como residuo agroindustrial. Las fibras obtenidas podrían tener aplicaciones potenciales en la industria alimentaria como ingredientes funcionales, mejoradores de textura o agentes estabilizantes. Futuras investigaciones podrían centrarse en la incorporación de la fibra dietaria de la cáscara de naranja en matrices alimenticias, para validar su comportamiento en aplicaciones reales y proceder a un estudio de escalamiento del proceso.

Contribuciones de los autores

Conceptualización, L.A.O.M. y J.M.C.; metodología, R.M.D. y L.A.O.M.; validación, R.M.D.; análisis formal, J.M.C. y R.M.D.; investigación, L.A.O.M. y R.M.D.; recursos, L.A.O.M.; redacción-redacción del borrador original, R.M.D.; redacción-revisión y edición, L.A.O.M., S.M.G.H. y J.M.C.; supervisión, L.A.O.M. y S.M.G.H.; administración del proyecto, L.A.O.M.; obtención de financiación, L.A.O.M. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Agradecimientos

El autor Ricardo Montañez Domínguez agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (Conahcyt) por la beca otorgada (No. 1267607) para estudios de Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos Funcionales, en el Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Durango.

Conflicto de interés

Los autores afirman que no poseen intereses económicos ni vínculos personales que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

5. Referencias

- AOAC. (2005). Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arayici, M. E., Mert-Ozupek, N., Yalcin, F., Basbinar, Y., & Ellidokuz, H. (2022). Soluble and insoluble dietary fiber consumption and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition and Cancer* 74(7):2412-2425. <https://doi.org/10.1080/01635581.2021.2008990>
- Ayala, J. R., Montero, G., Coronado, M. A., García, C., Curiel-Alvarez, M. A., León, J. A., Sagaste, C. A., et al. (2021). Characterization of orange peel waste and valorization to obtain reducing sugars. *Molecules* 26(5):1348. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26051348>
- Bai, X., He, Y., Quan, B., Xia, T., Zhang, X., Wang, Y., Zheng, Y., & Wang, M. (2022). Physicochemical properties, structure, and ameliorative effects of insoluble dietary fiber from tea on slow transit constipation. *Food Chemistry: X* 14:100340. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100340>
- Baskaya-Sezer, D. (2023). The characteristics of microwave-treated insoluble and soluble dietary fibers from grape and their effects on bread quality. *Food Science & Nutrition* 11(12): 7877-7886. <https://doi.org/10.1002%2Ffsn3.3705>
- Benassi, L., Alessandri, I., & Vassalini, I. (2021). Assessing green methods for pectin extraction from waste orange peels. *Molecules* 26(6):1766. <https://doi.org/10.3390/molecules26061766>
- De Lourdes, García-Magaña, M., García, H. S., Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Mata-Montes de Oca, M. (2013). Functional properties and dietary fiber characterization of mango

- processing by-products (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods for Human Nutrition* 68:254–258. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0364-y>
- Dong, W., Wang, D., Hu, R., Long, Y., & Lv, L. (2020). Chemical composition, structural and functional properties of soluble dietary fiber obtained from coffee peel using different extraction methods. *Food Research International* 136:109497. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109497>
- Emran, T. B., Islam, F., Mitra, S., Paul, S., Nath, N., Khan, Z., Das, R., Chandran, D., Sharma, R., Lima, C. M. G., Awadh, A. A. A., Almazni, I. A., Alhasaniah, A. H., & Guiné, R. P. F. (2022). Pectin: A bioactive food polysaccharide with cancer preventive potential. *Molecules* 27(21):7405. <https://doi.org/10.3390/molecules27217405>
- Gan, J., Huang, Z., Yu, Q., Peng, G., Chen, Y., Xie, J., Nie, S., & Xie, M. (2020). Microwave assisted extraction with three modifications on structural and functional properties of soluble dietary fibers from grapefruit peel. *Food Hydrocolloids* 101:105549. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105549>
- Guan, Z. W., Yu, E. Z., & Feng, Q. (2021). Soluble dietary fiber, one of the most important nutrients for the gut microbiota. *Molecules* 26(22): 6802. <https://doi.org/10.3390/molecules26226802>
- Guo, Y., Liu, W., Wu, B., Wu, P., Duan, Y., Yang, Q., & Ma, H. (2018). Modification of garlic skin dietary fiber with twin-screw extrusion process and in vivo evaluation of Pb binding. *Food Chemistry* 268:550-557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.047>
- Grigelmo-Miguel, N., & Martín-Belloso, O. (1998). Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. *Food Research International* 31(5):355-361. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(98\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00087-8)
- He, Y., Wang, B., Wen, L., Wang, F., Yu, H., Chen, D., Su, X., & Zhang, C. (2022). Effects of dietary fiber on human health. *Food Science and Human Wellness* 11(1): 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.001>
- Huang, J. Y., Liao, J. S., Qi, J. R., Jiang, W. X., & Yang, X. Q. (2021). Structural and physicochemical properties of pectin-rich dietary fiber prepared from citrus peel. *Food Hydrocolloids* 110:106140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106140>
- Khanpit, V. V., Tajane, S. P., & Mandavgane, S. A. (2023). Orange waste peel to high value soluble dietary fiber concentrate: Comparison of conversion methods and their environmental impact. *Biomass Conversion and Biorefinery* 13(7):14413–14423. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02481-6>
- Kratchanova, M., Pavlova, E., & Panchev, I. (2004). The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers* 56(2): 181-185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.009>
- Kute, A. B., Mohapatra, D., Kotwaliwale, N., Giri, S. K., & Sawant, B.P. (2020). Characterization of pectin extracted from orange peel powder using microwave-assisted and acid extraction methods. *Agricultural Research* 9:241–248. <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00419-5>
- Li, Y., Niu, L., Guo, Q., Shi, L., Deng, X., Liu, X., & Xiao, C. (2022). Effects of fermentation with lactic bacteria on the structural characteristics and physicochemical and functional properties of soluble dietary fiber from prosomillet bran. *LWT* 154:105081. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112609>

- Liu, H., Liang, J., Liang, C., Liang, G., Lai, J., Zhang, R., Wang, Q., & Xiao, G. (2022). Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética de la bergamota y su efecto en ratones diabéticos. *Nutrients Frontiers* 9:1040825. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1040825>
- Ma, M. M., & Mu, T. H. (2016). Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin. *Food Chemistry* 194:237–246. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.095>
- Ma, R., Chen, J. N., Zhou, X. J., Lin, H., Gao, Q., Peng, X., Tanokura, M., & Xue, Y. L. (2021). Effect of chemical and enzymatic modifications on the structural and physicochemical properties of dietary fiber from purple turnip (*Brassica rapa* L.). *LWT* 145: 111313. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111313>
- Martínez-Jiménez, A., García-Salazar, J. A., García-de los Santos, G., Ramírez-Valverde, G., Mora-Flores, J. S., & Matus-Gardea, J. A. (2020). Control of orange supply in Mexico as a mechanism to control price volatility. *Revista Fitotecnica Mexicana* 43(2): 223-231. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.2.223>
- Núñez-Gómez, V., San Mateo, M., González-Barrio, R., & Periago, M. J. (2024). Chemical Composition, Functional and Antioxidant Properties of Dietary Fibre Extracted from Lemon Peel after Enzymatic Treatment. *Molecules*, 29(1): 269. <https://doi.org/10.3390/molecules29010269>
- Qiao, H., Shao, H., Zheng, X., Liu, J., Liu, J., Huang, J., Zhang, C., Liu, Z., Wang, J., & Guan, W. (2021). Modification of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) residues soluble dietary fiber following twin-screw extrusion. *Food Chemistry* 335:127522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127522>
- Reynolds, A. N., Akerman, A. P., & Mann, J. (2020). Dietary fibre and whole grains in diabetes management: Systematic review and meta-analyses. *PLoS Medicine* 17(3): e1003053. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003053>
- Sang, J., Li, L., Wen, J., Gu, Q., Wu, J., Yu, Y., Xu, Y., Fu, M., & Lin, X. (2021). Evaluation of the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber extracted from Newhall navel orange by-products. *Foods* 10(11): 2772. <https://doi.org/10.3390/foods10112772>
- Soleimanian, Y., Sanou, I., Turgeon, S. L., Canizares, R. M., & Elmasry, M. (2022). Natural plant fibers obtained from agricultural residue used as an ingredient in food matrixes or packaging materials: A review. *Compr Rev Food Sc Food Saf* 21(1): 371-415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12875>
- Tan, X., Cheng, X., Ma, B., Cui, F., Wang, D., Shen, R., Li X., & Li, J. (2024). Characterization and Function Analysis of Soluble Dietary Fiber Obtained from Radish Pomace by Different Extraction Methods. *Molecules* 29(2): 500. <https://doi.org/10.3390/molecules29020500>
- Tejada-Ortigoza, V., Garcia-Amezquita, L.E., Serna-Saldívar, S.O., & Weltri-Chanes, J. (2016). Advances in the functional characterization and extraction processes of dietary fiber. *Food Engineering Reviews* 8: 251–271. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9134-y>
- Wang, K., Li, M., Wang, Y., Liu, Z., & Ni, Y. (2021). Effects of extraction methods on the structural characteristics and functional properties of dietary fiber extracted from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Hydrocolloids* 110:106162. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106162>
- Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., & Hu, X. (2007). Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(2):693-700. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.008>

- Wang, S., Fang, Y., Xu, Y., Zhu, B., Piao, J., Zhu, L., Yao, L., Liu, K., Wang, S., Zhang, Q., Qin, L., & Wu, J. (2022). The effects of different extraction methods on physicochemical, functional, and physiological properties of soluble and insoluble dietary fiber from *Rubus chingii* Hu. fruits. *Journal of Functional Foods* 93:105081. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105081>
- Welti-Chanes, J., Serna-Saldivar, S., Campanella, O., & Tejada-Ortigoza, V. (Eds.). (2020). *Science and technology of fibers in food systems*. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-38654-2>
- Wongkaew, M., Sommano, S. R., Tangpao, T., Rachtanapun, P., & Jantanasakulwong, K. (2020). Mango peel pectin by microwave-assisted extraction and its use as fat replacement in dried Chinese sausage. *Foods* 9(4): 450. <https://doi.org/10.3390/foods9040450>
- Wu, S., Jia, W., He, H., Yin, J., Xu, H., He, C., Zhang, Q., Peng, Y., & Cheng, R. (2023). A new dietary fiber can enhance satiety and reduce postprandial blood glucose in healthy adults: A randomized crossover trial. *Nutrients* 15(21): 4569. <https://doi.org/10.3390/nu15214569>
- Yan, J. K., Wu, L. X., Cai, W. D., Xiao, G. S., Duan, Y., & Zhang, H. (2019). Subcritical water extraction-based methods affect the physicochemical and functional properties of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Chemistry* 298:124987. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124987>
- Zhang, M., Bai, X., & Zhang, Z. (2011). Extrusion process improves the functionality of soluble dietary fiber in oat bran. *Journal of Cereal Science* 54(1): 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.04.001>
- Zhou, L., Luo, J., Xie, Q., Huang, L., Shen, D., & Li, G. (2023). Dietary fiber from navel orange peel prepared by enzymatic and ultrasound-assisted deep eutectic solvents: Physicochemical and prebiotic properties. *Foods* 12(10): 2007. <https://doi.org/10.3390/foods12102007>

2025 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Encapsulation of betalains from beetroot stem by spray drying using *Aloe vera* gel as carrier

Encapsulación de betalaínas de tallo de betabel mediante secado por aspersión utilizando como agente acarrareador gel de *Aloe vera*

José Carlos Castillo-Altamirano¹, Miguel Ángel Sánchez-Madrigal¹, Armando Quintero-Ramos¹ and Martha Graciela Ruiz-Gutiérrez^{1*}

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Circuito Universitario s/n Campus Universitario 2, Chihuahua 31125, México.

*Correspondencia: mruizg@uach.mx (Martha Graciela Ruiz-Gutiérrez)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1731>

Recibido: 04 de noviembre de 2024; Aceptado: 28 de enero de 2025

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Gerardo Méndez-Zamora

Abstract

The effect of *Aloe vera* (*A. vera*) as a carrier on the encapsulation of beetroot stem juice by spray drying was studied. Mixtures in % A = *A. vera* and % B = beetroot stem juice were dried by spray: a) 25A:75B, 150 °C, b) 25A:75B, 180 °C, c) 75A:25B, 150 °C, d) 75A:25B, 180 °C. The obtained powders were evaluated for water activity (a_w), moisture (M), pH, glass transition temperature (T_g), bulk density (BD), water solubility index (WSI), color parameters, betacyanin (BC) and betaxanthin (BX) contents, antioxidant activity (AA) and morphology. The results show that with increasing *A. vera* H, pH, BD, T_g , WSI, BC, BX and the tendency to red decreased, while brightness and tendency to yellow increased and more compressed capsules were observed in the powders. Temperature affected WSI, color parameters a^* and b^* and individual betacyanins. The beetroot stem powders presented characteristics that allow stability: low a_w (<0.13), low moisture (<10 %), adequate pH for betalains (5.3-5.8) and T_g suitable for storage (around 50 °C). The powder obtained with 25 % *A. vera* at 180 °C presented a higher WSI and a tendency to red color, due to its higher BC and BX content, representing an alternative as a natural pigment in food formulation.

Keywords: betalains, spray drying, encapsulation, *Aloe vera*, beetroot stem

Resumen

Se estudió el efecto del *Aloe vera* (*A. vera*) como acarreador en la encapsulación de jugo de tallo de betabel mediante secado por aspersión. Mezclas en % A = *A. vera* y % B = jugo de tallo de betabel fueron secadas por aspersión: a) 25A:75B, 150 °C, b) 25A:75B, 180 °C, c) 75A:25B, 150 °C, d) 75A:25B, 180 °C. Los polvos obtenidos se evaluaron para la actividad de agua (a_w), humedad (H), pH, temperatura de transición vítrea (T_g), densidad aparente (DA), índice de solubilidad en agua (ISA), parámetros de color, contenidos de betacianinas (BC) y betaxantinas (BX), actividad antioxidante (AA) y morfología. Los resultados muestran que el aumento de *A. vera* disminuye H, pH, BD, T_g , ISA, BC, BX y la tendencia al rojo, mientras que la luminosidad y la tendencia al amarillo aumentaron y se observaron cápsulas más comprimidas en los polvos. La temperatura afectó la ISA, los parámetros de color a^* y b^* , y las betacianinas individuales. Los polvos de tallo de betabel presentaron características que permiten la estabilidad: baja a_w (<0.13), baja humedad (<10 %), pH adecuado para betalainas (5.3-5.8) y T_g apta para almacenamiento (alrededor de 50 °C). El polvo obtenido con 25 % de *A. vera* a 180 °C presentó un mayor ISA y tendencia al color rojo, debido a su mayor contenido BC, representando una alternativa como pigmento natural en la formulación de alimentos.

Palabras clave: betalainas, secado por aspersión, encapsulación, *Aloe vera*, tallo de betabel

1. Introduction

Beetroot (*Beta vulgaris*) has been catalogued among the ten important vegetables (Kavalcová *et al.*, 2015). The intense red color of beetroot is due to high concentrations of betalains, and these are one of the compounds that provide beetroot with its antioxidant capacity (García *et al.*, 2016). Betalains from beetroot, are one of the most widely used natural colorants in the food industry as the red color is used in many food products. Of the beetroot plant, the main root or bulb is the part that is consumed; however, the stem contains betalains just like the bulb but it is not consumed directly, but can be considered as a by-product. The current trend is to recover valuable components of food by-products and recycle them within the food chain (Galanakis, 2015). The stem is a source of betalains (Slatnar *et al.*, 2015; Aguirre-Calvo *et al.*, 2018), with the potential to be used as a natural coloring alternative, the above with the purpose of formulating functional foods or to contribute to the new objectives in the food industry, such as obtaining clean label. Betalains from beet stems are a safe and healthy alternative of natural pigment, this approach as a current need.

Betalains are a group of water-soluble nitrogenous pigments with two structural groups: the red-violet group named betacyanins and the yellow-orange group named betaxanthins (Hussain *et al.*, 2018). Betalains have also received much attention due to their benefits for human health, especially for their antioxidant and anti-inflammatory activities among others (García *et al.*, 2016); help in the treatment of some pathologies (Clifford *et al.*, 2015). But despite its attractive color and health benefits there is a problem of stability of natural pigments when they are extracted from their sources, being highly sensitive to processing and storage conditions. To reduce the interactions of these compounds with factors to which they are sensitive, such as oxygen, humidity, light and the action of temperature and thereby increase their stability and shelf life, material packaging technologies can be used as a method of encapsulation. One technique for protecting and improving the stability of natural pigments is encapsulation by spray drying. This method has several advantages, including low cost and easy scalability. Even though spray drying has many advantages, the process is carried

out at high temperature ($>100\text{ }^{\circ}\text{C}$) and it has been reported that temperature is one of the process conditions that can cause degradation of components such as betalains, specifically the betacyanins (Ruiz-Gutiérrez *et al.*, 2014). A key point in the spray drying, to carry out the encapsulation it is necessary to use an adjuvant or carrier agent in the process. The most commonly used encapsulating agents are maltodextrin, gum arabic, and modified starch (Sánchez-Madrigal *et al.*, 2019), but in the search for functional carriers, other types of compounds such as beta-glucans (Ruiz-Gutiérrez *et al.*, 2014), inulin (Araujo-Díaz *et al.*, 2017) and fructans (Sánchez-Madrigal *et al.*, 2019) have been used, and more recently, matrices such as the use of maltodextrin-trehalose (Millinia *et al.*, 2024), whey protein isolate (Wu *et al.*, 2021) and ternary combinations of modified corn starch, gelatin, maltodextrin, tamarind gum, pectin, inulin and β -cyclodextrin (Guo *et al.*, 2020) have been tested, to develop encapsulated powders with suitable properties for use as food ingredients.

A. vera gel is increasingly used in food products (Ray *et al.*, 2013; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2020). Although the gel contains between 98.5 % and 99.5 % water, the solids are a combination of mucilage and other carbohydrates, organic acids and salts, enzymes, saponins, tannins, phenolic anthraquinones, flavonoids, flavanols, sterols, triacylglycerides, amino acids, vitamins, and minerals (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2020). This rich composition of functional compounds gives the gel a wide variety of biological activities, a bioactivity that can be used in ingredients for food formulation.

The objective of this study was to evaluate the use of *A. vera* gel as a carrier agent for encapsulation by spray drying of beetroot stem juice, and to study the physicochemical properties of the encapsulated powder obtained at different temperatures.

2. Materials and Methods

2.1 Materials

Beetroot Stem Juice. Whole beetroot plant (*Beta vulgaris*) was purchased from a local market in Chihuahua, Mexico. The stems were removed from the bulbs, then the stems were washed and disinfected [chlorine solution, 150 ppm] and processed through a domestic juice extractor. The juice obtained was vacuum filtered by passing the juice through of filter paper (No. 1; Whatman, Kent, UK). The juice was analyzed for moisture, pH, water activity, the total soluble solids ($^{\circ}\text{Bx}$), antioxidant activity, and betalains (betacyanins and betaxanthins) content. The filtered juice was frozen and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the dark until processing.

Aloe vera gel. *A. vera* (*Aloe barbadensis* Miller) was purchased from the greenhouse of the Faculty of Chemical Sciences of the Autonomous University of Chihuahua. The *A. vera* leaves were selected for their size (40 to 50 cm), light gray green color and freshness. The leaves were washed and disinfected [chlorine solution, 150 ppm]. To obtain the gel, the acibar was first extracted by cutting the bases of the leaves and allowing them to drain vertically for one hour. Then, the epidermis was removed and the pulp obtained from *A. vera* gel was rinsed with distilled water to remove the residue of the acibar on the surface, processed with a domestic blender and the juice obtained was used immediately. Some characteristics such as pH, soluble solids, color parameters and antioxidant activity were determined.

2.2 Methods

2.2.1 Encapsulation of beetroot stem juice

Mixture: Mixtures of 450 mL of *A. vera* (% A) and beet stem juice (% B) were prepared 25A:75B and 75A:25B. The beetroot stem juice was prepared with maltodextrin [30 % (w/w, based on total soluble solids)] to increase the yield of the encapsulated powder obtained, due to the high-water content of the *A. vera* gel. Each mixture was replicated and was passed through a spray dryer keep with constant agitation.

Spray Drying: A spray dryer (Niro Mobile Minor DK-2860; GEA Company) with a rotary atomizer at 30 psi air pressure was used. The mixtures were fed through a peristaltic pump (Watson Marlow 504-U; Falmouth, Cornwall, UK) and dried at 150 and 180 °C for the inlet temperature and 70 and 85 °C for the outlet temperature, respectively. Spray drying process was performed in duplicate.

2.2.2 Analyses methods:

pH: pH was determined using a pH meter (HANNA Instruments, model EDFE HI2020, RI, USA) calibrated with standard pH 7.0 and 4.0 buffers. For encapsulated powders, the pH was determined using the method described by Kha *et al.* (2010). Encapsulated powder (5 g) was mixed in 25 mL of deionized water at 20 °C. The determinations were performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Total soluble solids: Total soluble solids were measured with the Abbe refractometer (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan) which was previously calibrated with sucrose solutions. The determinations were performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Color: The color parameters of the luminosity (L^*), green/red ($-/+a^*$) and blue/yellow ($-/+b^*$) were recorded samples were performed using Konica Minolta CR-400/410 colorimeter, calibrated with standards with values $X=94.9$, $y=0.3185$ and $x=0.3124$. The determinations were made in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Moisture: The moisture content was determined by gravimetric method 950.02 (AOAC., 1998). The analysis was carried out in triplicate and the mean values with standard deviation were reported. The results were expressed as g of water/100 g of encapsulated powder.

Water activity (a_w): The a_w was measured using a water activity meter (AquaLab Series 3 Quick Start; Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). The analysis was performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Bulk density (BD): The BD was determined using the method described by Kha *et al.* (2010). Encapsulated powder (2 g) was placed in a 10 mL graduated cylinder and the cylinder was held in a vortex vibrator (Vortex-1; Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA) for 1 min. The BD value was calculated as the ratio of the mass in the cylinder to the volume occupied in the cylinder. The analysis was performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Morphology. Capsules were observed at $\times 750$ magnification with a scanning electron microscope (JSM-5800 LV; JEOL, Tokyo, Japan). The encapsulated powder was fixed on pieces of double-sided tape and coated with a thin layer of gold ($-110 \text{ \AA}$) using a sputter coating vacuum (Desk II; Denton vacuum LLC., Moorestown, NJ, USA). The samples were then examined by SEM at 10 kV.

Water Solubility Index (WSI). The WSI was determined according to Anderson *et al.* (1969). Encapsulated powder (2.5 g) and 30 mL of deionized water were mixed vigorously using a vortexer (Vortex-1; Scientific Industries Inc.) and incubated in a $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ water bath for 30 min. The mixtures were centrifuged at $3600 \times g$ for 60 min (Centra Centrifuge CL3R IEC; Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA). The supernatant was carefully collected in trays previously weighed to constant weight and dried (Shel Lab; Sheldon Manufacturing, Inc., Cornelius, OR, USA) at $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 36 h. The WSI was calculated as the percentage of the weight of the dried supernatant compared to the pre-dried weight of the powder. The analysis was performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Glass transition temperature (T_g). The T_g was measured according to the described method by Ahmed *et al.* (2010) using a differential scanning calorimeter (TA Q-200; TA Instruments, Crawley, UK). Encapsulated powder (8 mg) was placed in an aluminum dish and sealed. An empty sealed capsule was used as a reference. The temperature scanning program changed a range of $70 - 120 \text{ }^{\circ}\text{C}$, followed by cooling to $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ at a temperature ramp of $10 \text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ under a nitrogen gas atmosphere. Thermograms were analyzed using universal analysis software (TA Instruments). The glass transition temperature was interpreted as the midpoint of the curves obtained. The analysis was performed in duplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Betalains (BT) content: Both pigments, betacyanins and betaxanthins contents, were determined by spectrophotometric method. Beetroot stem juice was diluted with distilled water and the measurement was performed at a wavelength of 535 and 483 nm. The contents were expressed in mg/L of betacyanins and betaxanthins, respectively; using the following equation (Castellar *et al.*, 2003):

$$BT \text{ (mg/L)} = \frac{(A)(DF)(Mw)(1000)}{(\epsilon)(L)} \quad \text{Ec. (1)}$$

For encapsulated powders, the pigments were extracted according to the method of Castellanos-Santiago and Yahia (2008) with some modifications. Encapsulated powders (100 mg) were stirred in 10 mL of deionized water for 15 s using an Ultra-Turrax IKA T18 basic with an S18N19G homogenizer-dispersing tool (IKA Works Inc.). The samples were then centrifuged at $3,600 \times g$ at $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 40 min (Centra centrifuge CL3R IEC; Thermo Electron Corporation). This procedure was repeated to ensure efficient extraction. The supernatants were filtered through a $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ nylon filter (Millipore Corp.). Extractions were performed in triplicate and analyzed by spectrophotometry (Perkin-Elmer) and identification and degradation (%) by HPLC (1200 series; Agilent Technologies). The photometric quantification of betalains (betacyanins and betaxanthins contents) were performed according to the method of Castellanos-Santiago and Yahia (2008) using a Lambda 25 UV-Vis

spectrophotometer (Perkin Elmer). The betacyanin (BC) content and betaxanthin (BX) contents were calculated using the following equation:

$$BT(mg/g) = \frac{[(A)(DF)(Mw)(Vd)]}{(\epsilon)(L)(Wd)} \quad \text{Ec. (4)}$$

where: *A* is the absorbance value at the absorption maxima of 535 and 483 nm for betacyanins and betaxanthins, respectively, *DF* is the dilution factor, *Vd* is the volume of the dry pulp solution (ml), *Wd* is the weight of the dry pulp (g), and *L* is the path length (1 cm) of the tray. The molecular weights (*Mw*) and molar extinction coefficients (ϵ) of betanin [*Mw*=550 g/mol; ϵ = 60,000 L/(mol cm) in water at 536 nm] and indicaxanthin I [*Mw*= 308g/mol; ϵ = 48,000L/(mol cm) in water at 481 nm] were used for the quantification of betacyanins and betaxanthins. Measurements were performed in triplicate and the mean values with standard deviation were reported.

Individual betacyanins were analyzed by high pressure liquid chromatography using the method described by Castellanos and Yahia (2008). Briefly, samples were filtered through 0.45 μ m nylon filters, 20 μ L were injected into a Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 UHPLC equipped with a Thermo Scientific reversed-phase column (C18, 250 x 4.6 mm; drop size 0.5 μ m), and a UV detector (DAD Varian ProStar model 410, Palo Alto, CA). The mobile phase A: methanol/KH₂PO₄ 0.05 M (18:82 v/v) pH=2.75 with phosphoric acid, and the mobile phase B: methanol, were adjusted to a gradient of 100 % A to 80 % A and 20 % B in 20 min at a flow rate of 1 mL/min. Detection was performed at 536 nm for betacyanins.

Antioxidant Activity (AA): The AA was determined according to the spectrophotometric method according to Kuskoski *et al.* (2005), based on the measurement of DPPH• radical absorbance. First, 0.1 mL of extract was added to 3.9 mL of a DPPH• radical solution (100 μ M), vortexed (Vortex-1, Genie; Scientific Industries Inc.), and stored in the dark for 3 h. The absorbance was then measured at 517 nm using a Lambda 25 UV-Vis spectrophotometer (Perkin Elmer). A Trolox (0.08-1.28 mM) calibration curve was used. For juice the method described by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) was used. For encapsulated powders, the extracts were obtained according to the method described by Pitalua *et al.* (2010) with modifications; encapsulated powder (2.5 g) was dispersed in 50 mL of methanol and deionized water (1:1 v/v). The dispersions were homogenized for 15 s using an Ultra-Turrax (basic IKA T18) with a dispersing tool (S18N19G; IKA Works Inc.). The mixture was centrifuged at 3000 xg for 10 min (Centra centrifuge CL3R IEC; Thermo Electron Corporation). To ensure complete extraction, the process was repeated using 25 mL of methanol and deionized water (1:1 v/v). The supernatants were collected, filtered through a 0.22 μ m pore polyethylene filter (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Results were expressed as μ mol Trolox equivalents per gram of sample on a dry basis (mg TE/g). The determinations were performed in triplicate and the mean values were expressed as the standard deviation.

2.3 Experimental design and statistical analyses

A 2x2 completely randomized factorial design in duplicate was applied. The independent variables were carrier agent (25 and 75 %) and the inlet drying temperature (150 and 180 °C). The dependent variables were the physical and chemical properties of the encapsulated powder. Data

analysis was performed using Minitab (2018) software. The effect of the factors was determined using a two-way analysis of variance (ANOVA), and the Comparisons of means were calculated using Tukey's test at a significance level of 95 %.

3. Results y discussions

3.1 Beetroot stem juice characterization

Table 1 shows the characteristics of beetroot stem juice, the juice presented a pH of 5.98, a low soluble solids content (3.1 °Brix). The color presented a low brightness and tendencies to redness and blueness due to the presence of betalains and chlorophyll, respectively. The chemical characteristics showed a total betalains content of 107.85 mg/kg, divided in 71.78 for betacyanins and 36.07 mg/kg of betaxanthins, showing that the main betalains group is betacyanins (red-purple color), and an antioxidant activity of 16.52 ± 0.74 (mmol TE/100g). Beetroot stem juice presents similar characteristics of pH, color and total betalains content to beetroot juice with values of pH = 6.5, 5.62, 2.13, -1.26 for L, a and b and 135.75 mg betalains/kg beetroot, according to Pitalua *et al.* (2010), the main difference is in soluble solids which is almost 4 times lower than beetroot juice.

Table 1. Characteristics* of beetroot steam juice and *A. vera* gel

Tabla 1. Características* de jugo de tallo de betabel y gel de *A. vera*

Determination	Juice	<i>A. vera</i>
pH	5.98 ± 0.1	4.66 ± 0.02
Soluble solids	3.1 ± 0.1	0.87 ± 0.02
Luminosity	23.8 ± 0.02	36.15 ± 0.1
Green-red tendency	2.75 ± 0.03	0.54 ± 0.01
Blue-yellow tendency	-2.37 ± 0.03	2.05 ± 0.05
Antioxidant activity (mmol TE/100g)	16.52 ± 0.74	6.71 ± 0.22
Betacyanins (mg/kg)	71.78 ± 1.88	-
Betaxanthins (mg/kg)	36.06 ± 1.24	-

For *A. vera* gel the pH was 4.66 and soluble solids of 0.87 °Brix, results according to IASC (International Aloe Science Council), low soluble solids and acid pH. The color presented a slight tendency to yellow and a value of 6.72 ± 0.23 (mmol TE/100g) for antioxidant activity.

3.3 Encapsulated powders of beetroot stem juice

Four different powders were obtained and are showed in the Fig. 1, corresponding to the combinations of low content of *A. vera* in the mixture 25A:75B and high content of *A. vera* in the mixture 75A:25B at low spray drying temperature (150 °C) and high spray drying temperature (180 °C).

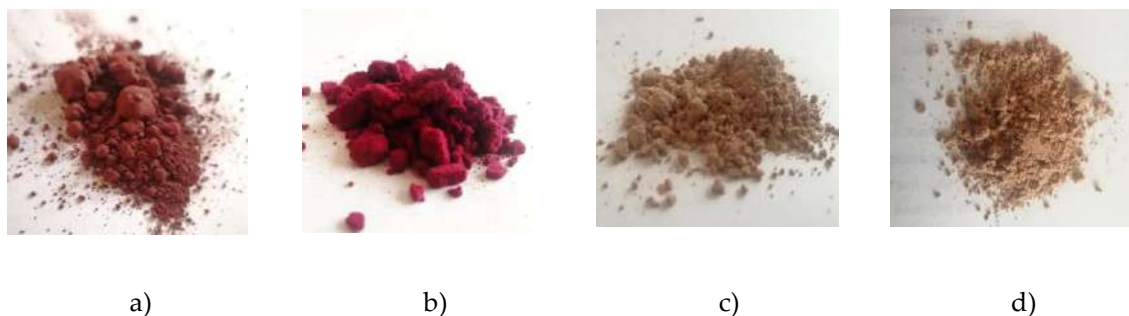


Figure 1. Encapsulated powder of beetroot stem using different content of *A. vera* as carrier and dried at different temperatures: % A = *A. vera* gel and % B = beet stem juice; a) 25A:75B, 150 °C; b) 25A:75B, 180 °C; c) 75A:25B, 150 °C; d) 75A:25B, 180 °C.

Figura 1. polvo encapsulado de tallo de betabel secado a diferentes temperaturas utilizando *A. vera* como acarreador: % A = Gel de *A. vera* y % B = jugo de tallo de betabel; a) 25A:75B, 150 °C; b) 25A:75B, 180 °C; c) 75A:25B, 150 °C; d) 75A:25B, 180 °C.

In general, the powders obtained with low *A. vera* (25 %) show a more red-purple color, due to the higher content of betalains in the mixture, but the effect of the drying temperature is visible. The powder dried at higher temperature (180 °C) showed a red-purple color more intense than the powder dried at lower temperature (150 °C). On the other hand, the color in the powders obtained with high content of *A. vera* in the mixture (75 %) at both drying temperatures is very similar the color, then, it can be related to the reduction of the effect of drying temperature.

The analysis of the stability characteristics of the encapsulated powder of beetroot steam using *A. vera* as a carrier is presented in Table 2. The powders of the four treatments had a low a_w value, around to 0.1, this value ensures the stability of the powder and no differences were found between treatments. Some studies reported a low a_w values for powders obtained by spray drying as Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) reported a_w values in red cactus pear encapsulated with soluble fiber as carrier (0.097 - 0.138) and Muñoz (2014) in beetroot juice dried using maltodextrin and grenetin as carriers (0.019 - 0.029).

Table 2. Characteristics* of encapsulated powder of beetroot steam by spray drying using *A. vera* as carrier

Tabla 2. Características* de polvo encapsulado de tallo de betabel secado por aspersión utilizando *A. vera* como acarreador

Temperature (°C)	Mixture (A-B)	Moisture (%)	a_w	pH
150°C	25:75	9.786 ± 0.038 ^a	0.127 ± 0.001 ^a	5.86 ± 0.07 ^a
180°C	25:75	9.279 ± 0.419 ^a	0.118 ± 0.012 ^a	5.88 ± 0.02 ^a
150°C	75:25	7.154 ± 0.101 ^b	0.130 ± 0.001 ^a	5.37 ± 0.03 ^b
180°C	75:25	7.079 ± 0.026 ^b	0.120 ± 0.007 ^a	5.47 ± 0.05 ^b

*Mean ± standard deviation. A (%) = *A. vera*; B (%) = beetroot steam juice. Means with different letter by characteristic indicate significative ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

The moisture contents are low, values ranging from 7.079 ± 0.026 to 9.786 ± 0.038 and the pH values ranged from 5.37 ± 0.03 to 6.88 ± 0.02 , for both variables the significant effect ($p < 0.05$) of the *A. vera* content as a carrier in the mixture is observed. The encapsulated powders with 25 % of *A. vera* present higher moisture and pH values than the encapsulated powders with 75 % of *A. vera*, because *A. vera* is a gel and by adding more in the mixture there is a high overall moisture content that is dried under the same temperature condition. Moisture contents are similar to curcumin powders (1.9 % to 10.1 %), slightly higher than whey protein isolate powders for blackcurrant concentrate and higher than maltodextrin and trehalose matrices used for roselle anthocyanins, reported by Guo *et al.* (2020), Wu *et al.* (2021) and Millinia *et al.* (2024). Moisture values tend to decrease with increasing amount of carrier used. The pH values are suitable for the stability of the pigments, betalains are generally stable in the pH range of 4–6 (Martins *et al.*, 2017), the pH values are statistically ($p < 0.05$) lowest in powders with a 75 % *A. vera* content (75 %) due to the low pH of the gel.

Other important properties in the encapsulated powders are bulk density, glass transition temperature and water solubility index, these properties are important in relation to the behavior of the encapsulated powder during transportation, storage and application and are presented in Table 3.

Table 3. Properties* of encapsulated powder of beetroot steam by spray drying using *A. vera* as carrier

Tabla 3. Propiedades* de polvo encapsulado de tallo de betabel secado por aspersión utilizando *A. vera* como acarreador

Temperature (°C)	Mixture (A-B)	Bulk density (g/mL)	T _g (°C)	WSI
150°C	25:75	0.730 ± 0.028^{ab}	55.98 ± 2.81^a	89.49 ± 0.23^a
180°C	25:75	0.755 ± 0.007^a	53.80 ± 4.22^a	86.60 ± 0.39^b
150°C	75:25	0.680 ± 0.000^b	48.36 ± 2.90^a	81.84 ± 1.30^c
180°C	75:25	0.670 ± 0.014^b	51.60 ± 0.91^a	86.89 ± 0.08^{ab}

*Mean $\pm$ standard deviation. A (%) = *A. vera*; B (%) = beetroot steam juice; T_g = Glass transition temperature; WSI = Water solubility index. Means with different letter by properties indicate significative ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

The bulk density ranges from 0.670 ± 0.014 to 0.755 ± 0.007 g/mL, although the values of the different treatments are close, there is a significant ($p < 0.05$) effect of both the amount of *A. vera* used and the interaction of this factor with temperature, being the effect of the amount of *A. vera* being more important. The encapsulated powders produced with 75 % of *A. vera* have a lower density than the encapsulated powders produced with 25 % of *A. vera*, because the solids content in the *A. vera* gel is lower than the solids content in the beetroot stem juice. Bulk densities slightly lower than the present study have been reported, 0.497–0.525 g/mL for *Amaranthus* extract (Tabio-García *et al.*, 2022) using *Opuntia ficus-indica* mucilage and maltodextrin as a carrier.

The T_g was statistically ($p > 0.05$) equal among the four encapsulated powders, values ranging from 48.36 ± 2.90 to 55.98 ± 2.81 °C. This temperature indicates the temperature at which the product changes its density, hardness, and stiffness and then retains its properties until reaching a temperature of about 50 °C is reached. This T_g value is better than that reported by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) for encapsulated powders prepared by spray drying but using soluble fiber as a carrier,

who reported values from 32.27 to 37.69 °C, and similar to the T_g (43.74-49.65 °C) reported for powders dried at 150 °C using maltodextrin and *Opuntia ficus-indica* mucilage as a carrier (Tabio-García *et al.*, 2022).

The water solubility index (WSI) was significantly ($p < 0.05$) affected by the amount of *A. vera* used in the mixture (0.002) and the interaction of drying temperature - amount of *A. vera* (0.001), the values ranged from 81.84 ± 1.30 to 89.49 ± 0.23 , respectively, these values were high compared to the WSI reported by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014), who reported WSI values of 0.64 to 0.764 for red cactus pear juice dried with soluble fiber, and similar to Tabio-García *et al.* (2022), who reported 82.96–92.81 % using maltodextrin and *Opuntia ficus-indica* mucilage as a carrier for encapsulation of *Amaranthus* extract. Although the WSI values are similar among the powders, the encapsulated powder with 75 % of *A. vera* dried at 150 °C presented the lowest WSI, and the encapsulated powder with 25 % of *A. vera* dried at 180 °C presented the highest WSI.

The analysis of the morphology of the powders, obtained by scanning electron microscopy (SEM) is shown in Fig. 2, the images showed a matrix in the form of spherical capsules with little agglomeration. Fig. 2a and 2b correspond to encapsulated powders obtained with 25 % of *A. vera* and show more spherical and less compressed capsules compared to encapsulated powders obtained with 75 % of *A. vera* (Fig. 2c and 2d). This compression characteristic is normal in spray drying as it can occur at the time of elimination of moisture. The collapse of the wall is more noticeable in Fig. 2c and 2d, where *A. vera* predominates in the mixture, since it contains a higher moisture content than the beetroot stem juice, causing a more compressed sphere. Therefore, the removal of water deforms the spherical particle in the case of the two powders. Different matrices produce different coating wall densities, and consequently, different shapes and textures, the maltodextrin-trehalose matrix, as a carrier, achieved more spherical shapes and smoother surfaces than in the present study, due to the presence of trehalose sugar (Millian *et al.*, 2024) or drying at a lower inlet temperature (120 °C). Powders obtained at similar drying temperatures show similar shapes in the capsules of the powders obtained with a 25 % of *A. vera* of the present study (Ruiz-Gutiérrez *et al.* 2014).

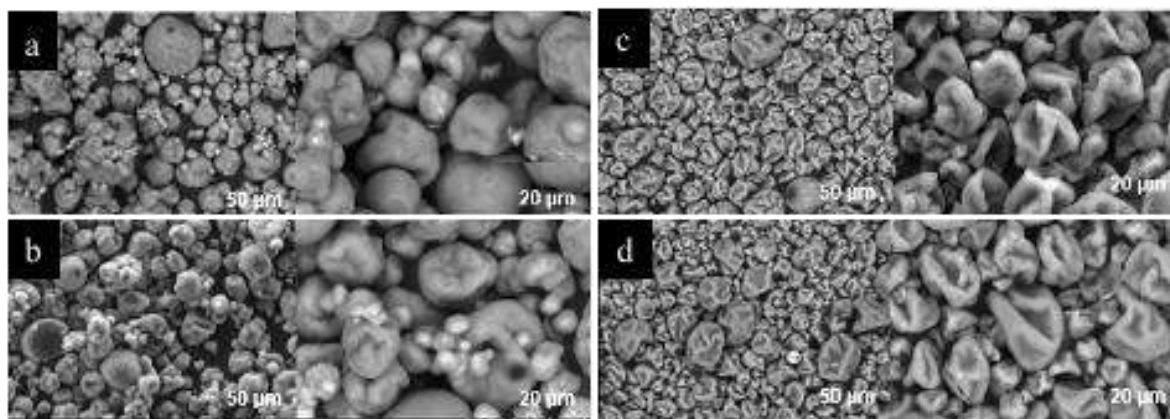


Figure 2. Encapsulated powder of beetroot stem with different content of *A. vera* as a carrier and dried at different temperatures; a) 25 % *A. vera* at 150 °C, b) 25 % *A. vera* at 180 °C, c) 75 % *A. vera* at 150 °C, d) 75 % *A. vera* at 180 °C.

Figura 2. Polvo encapsulado de tallo de betabel secado a diferentes temperaturas utilizando *A. vera* como acarreador; a) 25 % *A. vera* a 150 °C, b) 25 % *A. vera* a 180 °C, c) 75 % *A. vera* a 150 °C, d) 75 % *A. vera* a 180 °C.

However, in this case, the temperature does not affect either of the two powders, as these are very high temperatures that are capable of eliminating most of the water in the encapsulates.

The color parameters (L^* , a^* and b^*) are presented in Table 4. The luminosity (L^* parameter) presents values ranging from 26.74 to 53.26, L^* was significantly ($p < 0.05$) affected by percent of *A. vera* used in the mixture, finding that the encapsulated powder produced with 25 % of *A. vera* tends to dark color while that the encapsulated powder with 75 % of *A. vera* tends to white. Powders of whey protein isolate and black currant concentrate by spray drying showed a similar L^* parameter value, 52.81 ± 0.50 , (Wu et al., 2021) to powders with 75 % *A. vera* content.

Table 4. Color parameters* of encapsulated powder of beetroot steam by spray drying using *A. vera* as carrier dried at different temperatures.

Tabla 4. Parámetros de color de polvo encapsulado de tallo de betabel secado por aspersión utilizando *A. vera* como acarreador.

Temperature (°C)	Mixture (A-B)	L^*	a^*	b^*
150	25:75	26.74 ± 0.08^b	15.91 ± 0.85^b	-1.00 ± 0.03^b
180	25:75	32.99 ± 5.62^b	22.43 ± 1.08^a	-1.54 ± 0.02^c
150	75:25	53.26 ± 0.42^a	8.44 ± 0.01^c	13.88 ± 0.07^a
180	75:25	51.32 ± 0.68^a	8.07 ± 0.01^c	13.96 ± 0.12^a

*Mean $\pm$ standard deviation. A (%) = *A. vera*; B (%) = beetroot steam juice. Means with different letter by color parameter indicate significative ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

For the a^* parameter, the significant effects were due to the *A. vera* used in the mixture and the drying temperature, showing more tendency to red color the encapsulated powder prepared with 25 % of *A. vera*, values were 15.91 ± 0.85 and 22.43 ± 1.08 at 150 and 180 °C of drying temperature, respectively. For the encapsulated powder with 75 % of *A. vera* the values of parameter a^* , for both temperatures, were around 8, being significantly ($p < 0.05$) lower than the encapsulated powder elaborated with 25 % of *A. vera*. The difference is that this powder has less beetroot stem juice in the mixture, then less betalains, reducing the red tendency. For the b^* parameter the effects and differences are the same as for the a^* parameter, but the high b^* values (around 13) were for encapsulated powders with 75 % of *A. vera*, indicating a tendency to yellow. The low b^* values were for encapsulated powders with 25 % of *A. vera*, indicating a tendency to blue, and the powder dried at 180 °C presents the tendency to blue (-1.54 ± 0.02). At high drying temperatures, there may be greater degradation of betaxanthins (yellow-orange pigments), reducing the tendency to $+b^*$ (yellow).

The betalains analyses showed the expected trend, the betalains content is shown in Fig. 3. The encapsulated powders with 25 % *A. vera* had a higher betalains content, because the mixture contained more beetroot stem juice. No significant differences ($p > 0.05$) were observed by drying temperature. However, contrary to other studies, in which an increase in spray drying temperature

was found to lead to a decrease in betacyanin content, however, the temperatures at which this effect was observed were $> 180\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ruiz-Gutiérrez *et al.*, 2014).

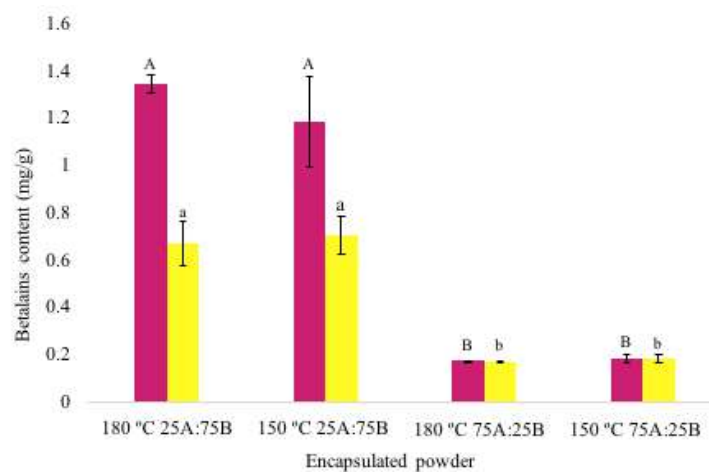


Figure 3. Betalains content on encapsulated powder of beetroot stem using different contents of *A. vera* as carrier and dried at different temperatures. ■ Betacyanins and ■ Betaxanthins. Mean $\pm$ standard deviation. A = *A. vera*; B = beetroot steam juice. Means with different letter by betalain group indicate significant ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

Figura 3. Contenido de betalainas de polvo encapsulado de tallo de betabel utilizando diferentes contenidos de *A. vera* como acarreador a diferentes temperaturas de secado. ■ Betacianinas y ■ Betaxantinas. Media con diferente letra por grupo de betalaina indican diferencia significativa ($p < 0.05$), mediante prueba de Tukey.

Highlighting that in the encapsulated powders obtained with 25% *A. vera* in the mixture, the betacyanin content is about double compared to betaxanthins, being visually noticeable (Figs. 1a and 1b), presenting contents ranging from 1.185 to 1.343 mg/g and from 0.671 to 0.705 mg/g, for betacyanins and betaxanthins, respectively. However, encapsulated powders obtained with 75 % *A. vera*, the contents of betacyanins and betaxanthins do not present differences ($p > 0.05$) showing contents around 0.35 mg/g of total betalains. These powders show a low tendency to red color and high tendency to yellow color (Table 3), and visually they have a pale beige color (Figs. 1c and 1d). The total betalains content is similar to that reported by Ruiz-Gutiérrez *et al.* (2014) for powder of red cactus pear powder by spray-drying using soluble fiber as a carrier, with values around of 1.4 – 1.8 mg/g for betacyanins and around 0.65 mg/g for betaxanthins were reported.

The analysis of betalains by HPLC helps to identify the individual betalains, especially the betalain that represents the group (betacyanins or betaxanthins) and which depends on the source, using the information reported by Slatnar *et al.* (2015) and Mikołajczyk-Bator & Pawlak (2016), such as retention times and elution order. Betacyanins are the most important group of pigments or with the highest content in the beetroot stem as shown by the quantification of total betalains carried out by UV-Vis spectroscopy (Fig. 3). These are the red-purple pigments and are quantified at a length of about 536 nm. The main individual pigments in this group are betanin, isobetanin, and neobetanin, although many more betacyanins may be present, and when these are analyzed by chromatography the order in which they appear in the chromatogram is betanin, isobetanin and neobetanin (Slatnar

et al., 2015). The analyses for changes in betacyanins are summarized in Table 5, where the areas of the four peaks found in the chromatograms are reported.

Table 5. Individual betacyanins of encapsulated of beetroot stem powder using different levels of *A. vera* as carrier and different spray drying temperatures.

Tabla 5. Betacianinas individuales de polvo encapsulado de tallo de betabel utilizando diferentes contenidos de *A. vera* como acarreador a diferentes temperaturas de secado.

Temperature (°C)	Mixture (A-B)	Peak 1 (mAU)	Peak 2 (mAU)	Peak 3 (mAU)	Peak 4 (mAU)
150	25:75	3.50 ± 0.08 ^a	10.93 ± 0.62 ^a	1.44 ± 0.10 ^a	0.54 ± 0.02 ^a
180	25:75	2.53 ± 0.23 ^b	6.10 ± 0.11 ^b	1.03 ± 0.05 ^b	0.35 ± 0.01 ^b
150	75:25	nd	nd	nd	nd
180	75:25	nd	nd	nd	nd

Area mean ± standard deviation. A (%) = *A. vera*; B (%) = beetroot steam juice; nd = not detected. Means with different letter by peak indicate significative ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

In the analysis of betacyanins in beetroot juice, betanin has been reported as the first peak in chromatograms, being the peak with more area. However, when beetroot juice is treated thermally, the first peak has a smaller area than betanin, being a product of betanin degradation, and then betanin appears as the second peak (Mikołajczyk-Bator & Pawlak, 2016). Then in Table 5, peak 2 could be betanin and the peak 1 is a product of its degradation; both peaks (44.19 and 27.7 %, respectively) decreased significantly ($p < 0.05$) due to an increase in drying temperature for encapsulated powder obtained with 25 % of *A. vera*. Peaks 3 and 4, may be related to some modified structure of betanin, isobetanin or neobetanin. They are smaller areas than betanin (peak 2) and peak 1, but these were also affected by the increase in drying temperature with reductions of 26.1 and 33.9 %, respectively. Tabio-García *et al.* (2022) reported that betacyanin losses occur in *Amaranthus* at 150 °C during spray drying.

On the other hand, no peaks were found in the encapsulated powders obtained with 75 % of *A. vera* in the mixture. This is due to the fact that the content of beetroot stem juice is low and consequently the content of betacyanins is also low, and in addition the drying temperature causes decreases or changes in these pigments. While that, betaxanthins (yellow-orange pigments) are the minority group, composed of vulgaxanthin I and II, as well as miraxanthin V. However, due to their low content, no peak could be detected during the analysis, for which a wavelength of 481 nm was used. It has been reported that betaxanthins are more affected by the effect of temperature than betacyanins (Ruiz-Gutiérrez *et al.*, 2014; Mikołajczyk-Bator & Pawlak, 2016).

Regarding the antioxidant activity of the encapsulated powders, the results are shown in Table 6, this property had a similar behavior to betalains. The differences were related to the *A. vera* used in the mixture. The highest antioxidant activity values were around 1.3 mmol TE/100 g for encapsulated powders with 25 % of *A. vera*, for both drying temperatures, being statistically different from powders with 75 % *A. vera* dried at 150 °C with values of 0.18 mmol TE/100 g. The values of antioxidant activity of encapsulated powders are lower than the antioxidant activity of beetroot stem juice and *A. vera* gel (Table 1), due to degradation or transformation of compounds as betalains and others as polyphenols (Tabio-García *et al.*, 2022).

Table 6. Antioxidant activity of encapsulated beetroot stem powder with different content of *A. vera* as carrier and different spray drying temperature.

Tabla 6. Actividad antioxidante de polvo encapsulado de tallo de betabel utilizando diferentes contenidos de *A. vera* como acarreador a diferentes temperaturas de secado.

Temperature (°C)	Mixture (A-B)	Antioxidant activity (mmol TE/100 g)
150	25:75	1.33 ± 0.13 ^a
180	25:75	1.36 ± 0.03 ^a
150	75:25	0.18 ± 0.05 ^b
180	75:25	nd

Area mean ± standard deviation. A (%) = *A. vera*; B (%) = beetroot steam juice; nd = not detected. Means with different letter by peak indicate significative ($p < 0.05$) difference, by Tukey's test.

4. Conclusion

The use of *A. vera* gel as a carrier in spray drying led to the obtaining of encapsulated beetroot stem juice powders. The results show that with increasing *A. vera* decreased H, pH, BD, T_g, WSI, BC, BX and the tendency to red, while luminosity and tendency to yellow increased, presenting more compressed capsules in the powders. Temperature affected the WSI, the color parameters a* and b* and the individual betacyanins, reducing the individual betacyanins and consequently the tendency to red. The encapsulated powders obtained showed characteristics that allow the stability of the powder components, such as low a_w (<0.13) and low moisture content (<10 %), pH suitable for the stability of betalains (5.3-5.88) and T_g suitable for storage (around 50 °C). Highlighting that the powder obtained with 25 % *A. vera* and at a drying temperature of 180 °C presented the best characteristics to be used as an ingredient in food formulation, with a water solubility index of 86.6, a color with a tendency to red-purple and with a content of ≈1.3 mg/g and ≈0.68 mg/g of betacyanins and betaxanthins, respectively, representing an alternative as a natural pigment to give or improve the color in food products.

Aknowlendgments

Studies carried out at the Autonomous University of Chihuahua (UACH).

Interes conflict

The authors declare no conflict of interest.

5. References

- Aguirre-Calvo, T. R., Perullini M., & Santagapita, P. R. (2018). Encapsulation of betacyanins and polyphenols extracted from leaves and stems of beetroot in Ca(II)-alginate beads: A structural study. *Journal of Food Engineering*, 235: 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.015>
- Ahmed, M., Akter, M.S., & Eun, J.B. (2010). Impact of amylase and maltodextrine on physicochemical functional and antioxidant capacity of spray-dried sweet potato flour. *J. Sci. Food Agr.*, 90(3): 495-502. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3845>
- Akbar, E., Sadiq, Z., & Zia-Ul-Haq, M.Z. (2018). *Betalains: Biomolecular Aspects*. London: Springer International Publishing. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-95624-4>
- Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., & Griffin, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Sci. Today*, 14(1): 4-7. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:A1969D209500002>
- A.O.A.C. (1998). *Official Methods of Analysis*. 16th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington. Washington: AOAC International.
- Araujo-Díaz, S.B., Leyva-Porras, C., Aguirre-Bañuelos, P., Alvarez-Salas, C., & Saavedra-Leos, Z. (2017). Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers* 167: 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.065>
- Castellanos-Santiago, E., & Yahia, E.M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.*, 56(14): 5758-5764. <https://doi.org/10.1021/jf800362t>
- Castellar, R., Obón, J.M., Alacid, M., & Fernández-López, J.A. (2003). Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *J. Agr. Food Chem.*, 51(9): 2772-2776. <https://doi.org/10.1021/jf021045h>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7 (4): 2801-2822. <https://doi.org/10.3390/nu7042801>
- Galanakis, C.M. (2015). *The Universal Recovery Strategy. Food Waste Recovery. Processing Technologies and Industrial Techniques* (pp. 59-81). Academic Press. <https://goo.su/fp0KLWp>
- García-Lucas, K.A., Méndez-Lagunas, L.L., Rodríguez-Ramírez, J., Campanella, O.H., Patel, B.K., & Barriada-Bernal, L.G. (2016). Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* Pitaya juice powder. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3): e12470. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12470>
- Guo, J., Li, P., Kong, L., & Xu, B. (2020). Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology* 132: 109892. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109892>
- Hussain, A. E., Sadiq, Z., & Zia-Ul-Haq, M.Z. (2018). *Betalains: Biomolecular Aspects*. London: Springer International Publishing. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-95624-4>

- Kavalcová, P., Bystrická, J. Tomáš, J., Karovičová, J., Kovarovič, J., & Lenková, M. (2015). The content of total polyphenols and antioxidant activity in red beetroot. *Potravinárstvo*, 9(1): 77-83. doi:10.5219/441
- Kha, T., Nguyen, M., & Roach, P. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *J. Food Eng.* 98(3): 385-392. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.016>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia Tecnol. Alime.* 25(4): 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- Martins, N., Lobo Roriz, C., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Coloring attributes of betalains: a key emphasis on stability and future applications. *Food & Function*, 8(4): 1357-1372. <https://doi.org/10.1039/C7FO00144D>
- Mikołajczyk-Bator, K., & Pawlak, S. (2016). The effect of thermal treatment on antioxidant capacity and pigment contents in separated betalain fractions. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 15(3): 257–265. <https://doi.org/10.17306/j.afs.2016.3.25>
- Millinia, B. L., Mashithah, D., Nawatila, R. & Kartini, K. (2024). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of maltodextrin and trehalose matrix on selected physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Future Foods*, 9: 100300. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100300>
- Minitab, M. I. (2018). Statistical Software. USA: State College, PA.
- Muñoz, R. C. (2014). Efecto del secado por aspersión en la estabilidad de componentes bioactivos de tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) (Tesis doctoral, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional).
- Pitalua, E., Jimenez, M., Vernon-Carter, E.J., & Beristain, C.I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food Bioprod. Process*, 88(2-3): 253-258. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.01.002>
- Ray, A., Dutta Gupta, S., & Ghosh, S. (2013). Isolation and characterization of potent bioactive fraction with antioxidant and UV absorbing activity from *Aloe barbadensis* Miller gel. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22: 483-487. <https://doi.org/10.1007/s13562-012-0178-2>
- Rodríguez-Rodríguez, M.Z., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C.O., Meza-Velázquez, J.A., Jiménez-Castro, J.A., Sánchez-Madrigal, M.A., Ruiz-Gutiérrez, M.G., & Espinoza-Hicks, J.C. (2020). Microbial and physicochemical properties of UV-C processed *Aloe vera* gel blends at different pHs using a continuous flow UV system. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 19(1): 175-188. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Proc566>
- Ruiz-Gutiérrez, M.Z., Amaya-Guerra, C.A., Quintero-Ramos, A., Ruiz-Anchondo, T., Gutiérrez-Urbe, J., Baez-González, J., Ladizábal-Gutiérrez, D., & Campos-Venegas, K. (2014). Effect of soluble fiber on the physicochemical properties of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) encapsulated using spray drying. *Food Sci. Biotechnol.*, 23(3): 755-763. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0102-8>
- Sánchez-Madrigal, M.Á., Quintero-Ramos, A., Amaya-Guerra, C.A., Meléndez-Pizarro, C.O., Castillo-Hernández, S.L., & Aguilera-González, C.J. (2019). Effect of agave fructans as carrier on

- the encapsulation of blue corn anthocyanins by spray drying. *Foods*, 8(7): 268. <https://doi.org/10.3390/foods8070268>
- Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R., & Jakopic, J. (2015). HPLC-MSⁿ Identification of Betalain Profile of Different Beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. vulgaris) Parts and Cultivars. *Journal of Food Science*, 80 (9): 1952-1958. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12977>
- Tabio-García, D., Paraguay-Delgado, F., Lardizabal-Gutiérrez, D., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C.O., Ochoa-Martínez, L.A., Sánchez-Madrigal, M.Á., Ruiz-Gutiérrez, M.G., & Espinoza-Hicks, J.C. (2023). Effectiveness of *Opuntia ficus-indica* mucilage as a carrier agent in microencapsulation of bioactive compounds of *Amaranthus hypochondriacus* var. *Nutrisol. Food Bioscience*, 52: 102368. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102368>
- Wu, G., Hui, X., Mu, J., Brennan, M.A., & Brennan, C.S. (2021). Functionalization of whey protein isolate fortified with blackcurrant concentrate by spray-drying and freeze-drying strategies. *Food Research International*, 141: 110025. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110025>

2025 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Guía para autores



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

| Dirección de Investigación y Posgrado

Política editorial

Son bienvenidos manuscritos originales e inéditos de tipo científico y tecnológico, los cuales deberán estar escritos con un lenguaje accesible a lectores con formación profesional o de interés científico en forma lógica y clara. TECNOCENCIA CHIHUAHUA, publica artículos de investigación, notas científicas y artículos de revisión actualizados *por invitación*. Todo manuscrito recibido es revisado en primera instancia por el Comité Editorial para asegurar que cumpla con el formato y contenido establecido por las normas editoriales de TECNOCENCIA CHIHUAHUA. El equipo editorial revisará que el envío cumpla con todos los requisitos de postulación, incluyendo su revisión bajo el software antiplagio iThenticate donde el porcentaje de similitud con otros trabajos deberá ser menor al 10 %. Los artículos serán enviados a revisión y una vez revisado y consideradas las sugerencias y cambios al manuscrito, los editores asociados determinarán su viabilidad para ser publicado; notificándose la aceptación o rechazo al autor. Si el manuscrito es aceptado la revista enviará el manuscrito al proceso de edición, cuyo responsable se contactará con el autor de correspondencia para la revisión y aprobación de las pruebas de galera. Así mismo, se le solicitará un resumen gráfico que describa en forma visual el contenido del artículo, además de cuatro o cinco aspectos relevantes del trabajo a publicar.

Para la evaluación de manuscritos se aplican los criterios de: rigor científico, calidad y precisión de la información, relevancia del tema y la claridad del lenguaje. Los árbitros prestarán especial atención a la originalidad de los escritos, es decir, revisarán que el manuscrito sea producto del trabajo directo del autor o autores y que no haya sido publicado o enviado algo similar a otras revistas. Los artículos de investigaciones deben presentar: un análisis detallado de los resultados originales, así como un desarrollo metodológico riguroso, resaltando los aportes científicos logrados. Las notas científicas o comunicación corta, deberán mostrar resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras. Asimismo, los artículos de revisión deberán abordar temáticas novedosas y fundamentar el estado del arte en una revisión de literatura actualizada sobre temas actuales y de interés para el lector.

La revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA proporciona un acceso abierto e inmediato a su contenido, con el principio de ofrecer al público un acceso libre a información científica original e inédita y a revisiones críticas actualizadas que favorezcan una mayor difusión global de conocimiento y cumplir así, con la normativa de acceso abierto de DOAJ.

Arbitraje

El proceso de evaluación de manuscritos es el siguiente: Un editor evaluará cada contribución, y podría rechazar trabajos en esta etapa por razones tales como: carecer de originalidad, tener serias deficiencias científicas, un uso inadecuado del lenguaje y de la gramática en general, o que el contenido esté fuera de los alcances de la revista. Los autores deberán proporcionar los datos de contacto completos de cuando menos tres árbitros potenciales adscritos a una institución distinta a la del autor, sin embargo,

la asignación de los árbitros para revisión del manuscrito será una decisión de la revista. La revista opera bajo un sistema de doble ciego y favorecerá la participación de revisores externos a la institución y al país de la revista. Tras el proceso de arbitraje, el editor emitirá un dictamen respecto a la evaluación del trabajo a los autores el cual puede ser: aceptado, aceptado con revisiones menores, aceptado con revisiones mayores o rechazado.

En caso de controversia, el Editor podrá solicitar una evaluación adicional con un tercer árbitro o dictaminar el manuscrito.

Derechos de autor

Una vez aceptado el manuscrito, se solicitará al Autor enviar el formato de cesión de derechos de autor para la difusión del artículo a TECNOCIENCIA CHIHUAHUA. Los autores concederán por escrito a la revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA, la propiedad de los derechos de autor, lo que permite que su artículo y materiales puedan ser reproducidos, publicados, editados, fijados, comunicados y transmitidos públicamente en cualquier forma o medio, así como su distribución en el número de ejemplares que se requieran y su comunicación pública, en cada una de sus modalidades, incluida su puesta a disposición del público a través de medios electrónicos, ópticos o de cualquier otra tecnología, para fines exclusivamente científicos, culturales, de difusión y sin fines de lucro.

Los artículos publicados en TECNOCIENCIA CHIHUAHUA, se distribuirán amparados bajo la [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#)

Costo y tiempo de publicación

La Revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA es gratuita y está financiada por la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Se solicita a los autores se inscriban a la Revista para estadísticas de acceso y autoría.

El tiempo para la recepción y envío a revisión será en un máximo de tres días. El tiempo promedio para la primera respuesta de los árbitros es de cuatro semanas. El tiempo estimado para la aceptación del artículo es de tres meses y su publicación dependerá de la cantidad de trabajos que estén en espera de publicación.

Contribuciones

1. Tipos de contribuciones

Las contribuciones se clasifican en artículos de investigación, notas científicas, así como artículos de revisión en español e inglés. Se aceptarán para su evaluación artículos de revisión, únicamente con *previa invitación* por parte del comité editorial de TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

No se aceptan contribuciones que se limiten a reportar información general sin fundamento estadístico, encuestas, composición química, u optimización de formulaciones (superficie de respuesta). Debe haber una aportación científica, tecnológica o ingenieril original, inédita y que no esté siendo considerada para su publicación simultánea en otro medio. Una descripción de los envíos se encontrará en el siguiente apartado.

2. Áreas de las contribuciones

Las áreas que abarca la Revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA son las siguientes: Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales. Al someter su contribución se deberá indicar la categoría que le corresponde. De no ser esto posible, es responsabilidad del autor proporcionar el área sugerida de su contribución.

3. Idioma de las contribuciones

El idioma de las contribuciones será inglés o español. Se recomienda que los autores lleven a cabo una cuidadosa revisión del correcto uso del lenguaje para que los revisores puedan evaluar los méritos científicos del trabajo. Los editores podrán rechazar cualquier contribución que no cumpla los estándares.

4. Preparación y envío de las contribuciones

Es indispensable que el autor se registre para postular el manuscrito a la revista. Se recomienda que el autor complete en su totalidad todos los datos solicitados en su perfil incluyendo su identificador [ORCID](#).

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingresa aquí](#)

Los autores, deberán seguir las directrices del sitio web de la revista para el envío de las contribuciones.

Lineamientos generales para envío de manuscritos

[Guía práctica para subir un envío a la plataforma](#)

Las contribuciones deben ir acompañadas de una carta al editor ([Carta de presentación del artículo](#)) en donde explícitamente se describirá la relevancia del trabajo, manifestando que el trabajo no ha sido publicado o está siendo considerado para

publicación en otra parte. Así mismo, se hará de manifiesto que la publicación ha sido aprobada por todos los autores y que el manuscrito una vez aceptado no será publicado de la misma forma en otra revista, en inglés, español, o cualquier otra lengua, ni electrónicamente, sin el consentimiento de la revista. Las secciones que integrarán a cada una de las contribuciones se muestran a continuación:

1) **Artículos científicos**

Se constituirán de los resultados parciales o finales de investigaciones originales fundamentadas en metodologías científicas. Los artículos de investigaciones deben presentar: un análisis detallado de los resultados, así como un desarrollo metodológico original, resaltando los aportes científicos logrados. Estos artículos se conforman de las siguientes secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Materiales y métodos
 - Materiales
 - Métodos
 - Métodos fisicoquímicos
 - Métodos biológicos
 - Métodos estadísticos
- e) Resultados y discusión
- f) Conclusiones
- g) Agradecimientos
- h) Conflicto de interés
- i) Referencias

En la descripción de la sección de Materiales y métodos y Resultados y discusión, puede redactarse y presentarse en una sola sección o estructurarse con subtítulos para una mejor descripción. Deberá tener una extensión de 18 cuartillas como máximo, incluyendo Resumen y Referencias

2) **Notas científicas**

Es una comunicación corta, sobre resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras, informes novedosos de investigaciones en el área de agropecuaria, salud, deportes o ingeniería. Para la presentación de este documento, se incluirán las secciones.

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Texto
- d) Conclusiones
- e) Agradecimientos

- f) Conflicto de interés
- g) Referencias

El texto de las notas científicas, se presentará en forma corrida, pero en forma clara y con coherencia, que permita su fácil comprensión. Deberá tener una extensión máxima de 9 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias

3) Artículos por invitación

Artículos de revisión

Se conformarán, de revisiones críticas actualizadas de un tópico en especial novedoso de las áreas temáticas de la revista. El objetivo de estos artículos, es presentar al lector una perspectiva de un tema en específico, a través de su análisis de la información, discusión y tendencias. La estructura de este artículo se conformará de las secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Texto
- e) Conclusiones
- f) Agradecimientos
- g) Conflicto de interés
- h) Referencias

El texto deberá ser coherente con el objetivo y podrá redactarse con los subtítulos que sean necesarios, para una mayor comprensión del tema. Deberá tener una extensión máxima de 20 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias.

Plantillas de los artículos

La descripción de las secciones están incluidas en la siguiente sección de esta Guía para Autores, además de en la plantilla para cada tipo de artículo: Artículo de Investigación: [Plantilla de Artículo de Investigación](#); Notas científica: [Plantilla de Notas Científicas](#); Artículo de Revisión: [Plantilla Artículo de Revisión](#). En estas se consideran sus especificaciones, las cuales deben ser acatadas por el autor. Asimismo, en cada una de las plantillas vienen las especificaciones del formato de texto (tamaño y tipo de fuente, márgenes, interlineado, etc.) el cual debe estar a una columna. Todas las páginas deben ser numeradas secuencialmente.

Descripción de los elementos de un artículo

Título

Deberá incluir versiones en español e inglés, ser conciso y explicar la naturaleza del trabajo. Este deberá tener una extensión máxima de 20 palabras. La plantilla incluye la sección de autores, los cuales deberán ser correctamente descritos, incluyendo su afiliación. En caso de existir varios autores, deberá indicarse con un asterisco el autor para la correspondencia, así como la cuenta de correo electrónico del mismo.

Resumen/Abstract

Éste deberá presentarse en español e inglés, respectivamente. Con la extensión máxima de palabras como se muestra en la plantilla. Este debe de incluir en forma clara el objetivo, descripción breve de la metodología, resultados y discusión relevantes conclusiones y aporte del trabajo. En éste se incluirán cinco palabras claves, en español e inglés, que permitan ligar informáticamente el contenido del artículo.

Introducción

La introducción describe el estado actual del conocimiento sobre el tópico de investigación abordado, su justificación e importancia, así como la inclusión de la hipótesis y el objetivo del trabajo. Esta sección no deberá ser mayor a dos cuartillas.

Materiales y métodos

Materiales

En esta sección se describen los materiales o sustancias empleadas para el desarrollo de la investigación. Especificando las características y fuentes de obtención, condiciones de manejo, almacenamiento y grado de pureza de sustancia o reactivos si ese es el caso. Señalando el nombre de compañías, ciudad y país donde los materiales y sustancias fueron adquiridos.

Métodos

Descripción de técnicas y procedimientos, así como el análisis de datos de los resultados obtenidos. En el caso de metodologías novedosas, estas se describirán detalladamente y cuando sean métodos comunes, se indicará la referencia correspondiente.

Ética: Cuando el artículo incluya estudios, experimentos con animales y evaluación sensorial de alimentos se deberá de incluir la sección ética correspondiente, la cual deberá describir los procedimientos seguidos y su apego a las normas, asimismo adjuntar un documento con la aprobación por el comité de bioética que corresponda.

Resultados y discusión

Los resultados y discusión se presentarán en una sola sección. Los resultados podrán presentarse en tablas, figuras, fotografías o datos, los cuales se describirán y se justificarán con base a conocimientos o fundamentos existentes. En esta sección se contrastan los resultados obtenidos con la hipótesis planteada y sus semejanzas o

diferencias con resultados de investigaciones previamente realizadas y publicadas. El empleo de tablas y figuras deberá ser en forma complementaria del texto de la sección.

Conclusión

Es una generalización de los resultados obtenidos y representan las aportaciones concretas del estudio. Incluyen magnitudes relativas o absolutas de las respuestas sin argumentación complementaria. Resaltando los aspectos novedosos e importancia de los resultados obtenidos, especificando mejores condiciones o parámetros finales del estudio. Debe mostrar congruencia con el título, resumen y objetivo del trabajo.

Agradecimientos

Esta sección es opcional y tendrá un máximo de cuatro renglones para expresar agradecimientos a personas o instituciones que hayan contribuido a la realización del trabajo.

Conflicto de Interés

Escribir un párrafo señalando la inexistencia de conflicto de intereses, en la publicación de estos resultados.

Referencias

Las referencias que se incluyan en el texto deberán ser pertinentes, originales y modernas; se citarán acorde al formato sistema Harvard, en el cual se incluye el apellido de los autores y año de la publicación entre paréntesis. En el caso de que sean dos autores irán unidos por “y” (Choi y Garza, 2020). Cuando sean más de dos autores, se citará el apellido del primero seguido por “et al.,” (en cursiva) y el año de publicación (Gu *et al.*, 2019). Si se citan varias referencias, éstas se separarán por punto y coma y en orden cronológico ascendente (Gu *et al.*, 2019; Choi y Garza, 2020). La relación de autores en la sección de referencias será por orden alfabético de acuerdo al formato APA.

IMPORTANTE: Toda vez que la referencia cuente con el registro internacional DOI debe incluirlo utilizando el siguiente formato **<http://doi.org/XXXXXX>**

A continuación, se muestran algunos ejemplos:

Artículos de revistas científicas

Braber, N. V., Vergara, L. D., Rossi, Y. E., Aminahuel, C. A., Mauri, A. N., Cavaglieri, L. R., & Montenegro, M. A. (2020). Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions. *LWT*, 118, 108844. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108844>

Capítulos de libros

Ho, Y. C., Chua, S. C., & Chong, F. K. (2020). Coagulation-Flocculation Technology in Water and Wastewater Treatment. In *Handbook of Research on Resource Management for Pollution and Waste Treatment* (pp. 432-457). IGI Global.

Libros

Low, I. M. (Ed.). (2018). *Advances in ceramic matrix composites*. Woodhead Publishing.

Patnaik, A., & Patnaik, S. (Eds.). (2019). *Fibres to Smart Textiles: Advances in Manufacturing, Technologies, and Applications*. CRC Press.

Patentes

Götz, M. R., Holmgren, K., Larsson, N., Fiebich, B., & Wade, W. (2019). *U.S. Patent Application No. 16/478,514*.

Tesis

Rios, E. A. (2018). *Incidencia y control de tipos patógenos de Escherichia coli (STEC y EPEC) en leche de vaca y quesos derivados en Castilla y León* (Tesis doctoral, Universidad de León).

Boletín

Kirk, M. D., Angulo, F. J., Havelaar, A. H., & Black, R. E. (2017). Diarrhoeal disease in children due to contaminated food. *Bulletin of the World Health Organization*, 95(3), 233.

Páginas electrónicas

Inegi. (2017). <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/>

Base de datos

Wishart, D. S., Feunang, Y. D., Marcu, A., Guo, A. C., Liang, K., Vázquez-Fresno, R., ... & Sayeeda, Z. (2017). HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic acids research*, 46(D1), D608-D617.

Citas la abreviación de la revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA en los índices internacionales es *Rev. TECNOCIENCIA CHIH*.

Tablas, figuras y ecuaciones, las tablas y figuras deben enviarse en un archivo adjunto al manuscrito; de preferencia en un archivo Word. O bien, crear un archivo comprimido (.zip o .rar) que contenga los archivos de tablas y figuras. Adicionalmente, las tablas y figuras del manuscrito, se colocarán dentro del texto principal en el lugar indicado por

los autores, con títulos en español e inglés. El título de la figura debe presentarse como Fig. 1. Título de la figura.

Es recomendable que las figuras se preparen con software específico. Tome en cuenta que el tamaño de las figuras se ajustará en el proceso de edición para ajustarse a los márgenes de impresión. Por ello, se recomienda hacer ejes, cuadros, etc., suficientemente grandes para que resulten legibles aún al reducir el tamaño. Las extensiones aceptables para las figuras son JEPG y TIF, considerando las siguientes características de calidad (en puntos por pulgadas):

- 300 ppp para imágenes a escala de grises o color.
- 600 ppp para combinaciones imagen texto.
- 1,200 ppp para imágenes a línea.

Las tablas deben presentar tres bordes horizontales completos (en la fila de encabezados y al final), cualquier otro borde horizontal debe ser parcial, no deben tener bordes verticales y no se aceptarán en forma de imágenes.

Las ecuaciones deben estar escritas con un editor de ecuaciones y deben aparecer en el manuscrito numeradas con el formato de número arábigo. Las ecuaciones insertadas como imágenes no son aceptables.

En el texto del manuscrito, al referirse a una ecuación debe escribirse de la siguiente manera: Ec. (1) o bien Ecs. (1) -(4), al referirse a una figura, seguir la misma regla, por ejemplo: Fig. 1, o bien Figs. (1) -(5) y al referirse a una tabla, por ejemplo: Tabla 1 o bien Tablas (1) -(3).

Figuras y cuadros (versión para producción)

Las figuras y gráficos deben proporcionarse en el texto principal y numerarse consecutivamente con números arábigos y sus subtítulos respectivos deben incluirse dentro del texto principal en el lugar indicado por los autores.

Cuando se incluyan figuras que contengan fotografías o micrografías, asegurarse que sean de alta resolución para que cada foto tenga al menos 300 ppp para imágenes a escala de grises o color. Todas las fotografías deben contener el nombre del autor.

Tablas (versión para producción)

Las tablas deben proporcionarse en el texto principal y como archivo adjunto, y numerarse con números arábigos. Deben estar incrustados en el texto del manuscrito, en el lugar indicado por el autor. Las tablas deben prepararse con Microsoft Word® 2007 o posterior; no deben importarse de Excel® o Powerpoint®, y deben:

- a) Tener un número y un título (en inglés y en español)
- b) Sea auto-explicable

- c) Tener los dígitos significativos con la desviación estándar definidos de acuerdo con el criterio estadístico
- d) Mostrar datos que no se muestran en los gráficos
- e) Tener el formato más simple posible; no está permitido el uso de sombras, color o filas verticales y diagonales
- f) Solo tienen letras minúsculas en el superíndice que indiquen notas al pie de tabla (abreviaturas, unidades, diferencias estadísticas, etc.). Un ejemplo de tabla se muestra en los formatos de "[Plantillas de artículos](#)"

Abreviaturas, los nombres científicos se escribirán en cursivas, el género de la especie podrá abreviarse después de que se mencione por primera ocasión en el texto. Las unidades de cualquier dato científico o de laboratorio deberán seguir el sistema internacional de medidas y usar las abreviaturas o símbolos recomendados por las normas internacionales. No deberá usarse punto en las abreviaciones Ej.: kg (NO kg.). Se utilizará espacio entre la cantidad y la unidad o símbolo Ej. 8 cm, 100 %. Las notas a pie de página deberán ser evitadas.

Material adicional, si los autores lo desean, pueden proporcionar material adicional o complementario como soporte al artículo (texto, tablas, figuras o multimedia), el cual estará disponible en la página web de la revista una vez que sea publicado. Si el manuscrito ha sido aceptado, también se le solicitará al autor un resumen gráfico y los puntos relevantes del trabajo. El resumen gráfico debe describir en forma general el contenido del artículo, este resumen debe tener las siguientes características: archivo editable en diapositiva de Powerpoint, NO usar datos, tablas o figuras contenidos en el artículo, contener figuras libres de restricciones de derechos de autor, debe incluir un resumen que incluya de dos a tres enunciados donde se describe los antecedentes, como fue realizado el trabajo y los principales resultados. Los puntos relevantes del trabajo, deberán ser cuatro aspectos alcanzados, presentados en forma de enunciado con un máximo de 80 caracteres con espacios.

Los archivos que el autor deberá preparar para el envío serán:

([Formatos](#))

El texto principal del manuscrito debe presentarse de la siguiente manera:

1) El manuscrito en Word para producción

Este archivo, corresponde a las "[Plantillas de artículos](#)" presentadas en esta guía de autores, cuyas características de formato se muestran a continuación.

- Formato Microsoft Word® 2007 (o posterior)
- 10 puntos Palatino Linotype
- Espaciado especificado en la plantilla

- Texto completo del manuscrito (extensión de acuerdo al tipo de manuscrito)
- Las figuras, cuadros, tablas, ecuaciones y sus respectivos títulos deben estar incorporados en el texto principal en el lugar indicado por los autores
- Las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- La carta de presentación debe presentarse por separado
- La página principal debe incluir los nombres e instituciones de los autores
- El archivo deberá llamarse “**Apellidos autor producción**”.doc.

2) En el manuscrito en Word para revisión

Este archivo es una copia del **manuscrito en Word para producción** pero se editará **sin** los nombres de los autores e Instituciones para enviar este archivo cegado a revisión con los árbitros.

Este archivo deberá ser nombrado “**Apellidos de autor revisión**”.doc: versión para evaluación del revisor. Las características de formato incluyen las siguientes especificaciones:

- Las líneas del texto al igual que las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- **No debe incluir** los nombres e instituciones de los autores ni en la página principal del manuscrito, ni en la información del archivo

3) Carta de presentación de artículo o autoría.

La carta de presentación del manuscrito ([Carta de presentación del artículo](#)) debe incluir la relevancia e importancia del trabajo (un breve texto que describa la relevancia del trabajo de investigación o artículo de revisión de manera concisa (con no más de 100 palabras). Además, incluirá la declaratoria de que el documento presentado no ha sido publicado (parcial o totalmente) ni ha sido sometido a arbitraje simultáneamente en otra revista. Haciendo constar que cuenta con la aprobación para su publicación por los autores y coautores.

4) Los archivos de Tablas y Figuras para producción (especificaciones que se describen en la **sección de Tablas, figuras y ecuaciones** en esta guía)

5) Resumen gráfico (características descritas en la **sección de Material adicional** en esta guía)

Después de verificar el estilo de formato (acorde a la plantilla y especificaciones en esta guía de autores) y crear los archivos de acuerdo a las especificaciones presentadas, continúe con el envío en línea.

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingresa aquí](#)

Una vez registrado en la plataforma de la revista, entrar y dar clic en 'Nuevo envío', después seguir las instrucciones y completar cada una de las 5 pestañas del envío.



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

Special

Issue

VALORIZATION
STRATEGIES OF AGRI-
FOOD PRODUCTS AND
BY-PRODUCTS FOR THE
INGREDIENTS AND
FUNCTIONAL
FOODS DEVELOPMENT
WITH CONSUMERS
HEALTH IMPACT



EDITORES RESPONSABLES:

DR. JOSÉ DE JESÚS ZAZUETA MORALES, Universidad Autónoma de Sinaloa

DR. GERARDO MÉNDEZ ZAMORA, Universidad Autónoma de Nuevo León

DR. MIGUEL ÁNGEL SÁNCHEZ MADRIGAL, Universidad Autónoma de Chihuahua

DR. DIEGO ELOY CARBALLO CARBALLO, Universidad Autónoma de Chihuahua

DR. JAVIER MATEO OYAGÜE Universidad de León



UACH
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Dirección de
Investigación y Posgrado

SPECIAL ISSUE

VALORISATION
STRATEGIES OF
AGRI-FOOD
PRODUCTS AND
BY-PRODUCTS FOR
THE INGREDIENTS
AND FUNCTIONAL
FOODS
DEVELOPMENT
WITH CONSUMER
HEALTH IMPACT



TECNOCENCIA CHIHUAHUA
Revista de ciencia y tecnología