



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

**“Optimización de las condiciones de
termoultrasonificación del jugo de betabel (*Beta
vulgaris* L.) sobre la calidad microbiológica,
propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y su
comparación con la pasteurización”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Licenciada en Nutrición

PRESENTA

P.L.N. Lisette Monsibaez Ramírez Melo

No. Cuenta: 312924

Bajo la Dirección de:

Dra. Nelly Del Socorro Cruz Cansino

Codirector:

Dr. Luis Delgado Olivares

Pachuca de Soto, Hidalgo, 2020.





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 40 del Reglamento de Titulación vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Optimización de las condiciones de termoultrasonificación del jugo de betabel (*Beta vulgaris* L.) sobre la calidad microbiológica, propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y su comparación con la pasteurización"

Que para obtener el Título de Licenciada en Nutrición sustenta la Pasante

C. Lisette Monsibaez Ramírez Melo
A T E N T A M E N T E
Pachuca, Hidalgo, 11 de diciembre de 2019
"Amor, Orden y Progreso"

PRESIDENTE:	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
SECRETARIO:	DRA. DIANA PATRICIA OLIVO RAMÍREZ
PRIMER VOCAL:	MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ
SEGUNDO VOCAL:	DR. LUIS DELGADO OLIVARES
TERCER VOCAL:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
PRIMER SUPLENTE:	DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA
SEGUNDO SUPLENTE:	DRA. ARACELI ORTÍZ POLO

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada quiero agradecerle a Dios por darme la oportunidad de culminar con esta parte tan importante de mi vida y por permitirme coincidir con todas las personas que formaron parte de todo esto y a quienes voy a mencionar a continuación.

Gracias a mis padres por todo lo que han hecho y dado por mí, por todos los sacrificios y la confianza que me brindaron para superarme, porque sin ustedes hoy no sería nada y nunca me cansaré de agradecerles. Gracias también a mis hermanos por apoyarme siempre y alentarme.

Gracias especialmente a la doctora Nelly, por ser la mejor directora de tesis, por darnos su confianza aceptándonos, porque logró que me sintiera en familia en el laboratorio, por regalarnos su tiempo y paciencia para revisarnos. Gracias por abrirnos las puertas de su casa, por siempre apoyarnos y por transmitirnos un poquito de todos sus conocimientos.

Gracias a ti Luis Traspeña, que no solo fuiste mi compañero de universidad y de servicio, eres mi colega y mejor amigo, que con esos chistes y la buena música, era más fácil todo. Te voy a extrañar muchísimo.

Gracias a mis mejores amigos (Nico, Meli, Lilo, Diana, Gabito, Rubí y Ana) que aún se mantienen ahí conmigo, por aguantarme, escucharme, aconsejarme y por estar cada día impulsándome y dándome ánimos cuando sentía que ya no podía más.

Gracias a Betty, Mariel, Andrea y Luis Jiménez por todo el tiempo que estuvimos juntos, por todas las aventuras, los convivios, los cafés y charlas de las mañanas, por todas las veces que nos cubríamos los unos a los otros y por todos esos momentos que daría lo que fuera por volver a repetir. Gracias por volverse mis mejores amigos y ser el mejor equipo de laboratorio.

Gracias a Quina, Alicia, Chava y Gloria, que sus tesis, apuntes y conocimientos fueron la base de todo lo que ahora es. Gracias por los consejos y porque siempre nos brindaron su ayuda no solo en el laboratorio, sino como personas, porque hacían que se pasaran más rápido esas horas que compartíamos.

Gracias negro por acompañarme todos estos años a lo largo de la carrera, porque desde que te conozco nunca me has dejado sola, porque me has apoyado infinidad de veces y porque pesar de todo, aquí estamos. Por fin lo logré.

Gracias a Arlo por darme ánimos siempre, por hacerme ver el lado relajado y bueno de la vida, que no todo es tan difícil como parece, por apoyarme y estar ahí conmigo.

Gracias a la maestra Claudia y al chef Omar por compartir tanto con nosotros, por ayudarnos siempre que podían, por los consejos y por ser tan buenos.

Gracias a mi codirector el Dr. Luis Delgado, quien siempre se mantuvo al tanto de mí y mis avances, por su tiempo, dedicación y paciencia, además de compartir parte de sus conocimientos conmigo y mis compañeros.

Gracias a todos los doctores y pasantes de otros laboratorios que sin su ayuda, conocimientos, experiencias y aventuras, mucho de esto no hubiera sido posible.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
SUMMARY	3
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1 Betabel	5
1.2 Producción de betabel	5
1.3 Consumo de betabel.....	5
1.4 Morfología del betabel.....	6
1.5 Composición química.....	7
1.5.1 Antioxidantes en el betabel	9
1.5.1.1 Betalaínas	10
1.6 Efectos terapéuticos del betabel	11
1.7 Procesamiento de jugos.....	13
1.7.1 Pasteurización	13
1.7.2 Ultrasonido.....	14
1.7.2.1 Termoultrasonido	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
OBJETIVOS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2. METODOLOGÍA	18
2.1. Diseño experimental	18
2.2 Tratamientos.....	21
2.3 Diseño experimental de los ensayos de superficie de respuesta	21
2.4 Obtención de la materia prima y del jugo de betabel.....	22
2.5 Análisis microbiológico.....	23
2.6 Propiedades fisicoquímicas	23
2.6.1 pH.....	23
2.6.2 Sólidos solubles totales (SST)	23
2.6.3 Acidez titulable.....	23
2.6.4 Índice de estabilidad	24

2.6.5 Viscosidad	24
2.6.6 Índice de turbidez.....	25
2.6.7 Índice de oscurecimiento	25
2.6.8 Color	25
2.7 Actividad enzimática	26
2.7.1 Actividad residual de pectinmetilesterasa (PME).....	26
2.7.2 Actividad residual de polifenoloxidasa (PPO).....	27
2.8 Determinación de compuestos bioactivos	27
2.8.1 Determinación de betalaínas.....	27
2.8.2 Determinación de contenido de fenoles	28
2.8.3 Ácido ascórbico.....	29
2.9 Determinación de actividad antioxidante	29
2.9.1 ABTS ⁺ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico).....	29
2.9.2 DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)	30
2.9.3 FRAP	30
2.9.4 Actividad quelante.....	31
2.10 Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i> de antioxidantes	31
2.11 Análisis estadístico	32
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
3.1 Análisis microbiológico.....	33
3.2 Propiedades fisicoquímicas	34
3.2.1 pH.....	34
3.2.2 Sólidos solubles totales (SST)	37
3.2.3 Acidez titulable (AT)	37
3.2.4 Índice de estabilidad	38
3.2.5 Viscosidad	38
3.2.6 Índice de turbidez y oscurecimiento	39
3.3 Color	41
3.4 Actividad enzimática	44
3.4.1 Pectinmetilesterasa (PME).....	44
3.4.2 Polifenoloxidasa (PPO).....	44
3.5 Contenido de betalaínas	47
3.6 Contenido de fenoles	51

3.7 Ácido ascórbico.....	52
3.8 Actividad antioxidante y actividad quelante	52
3.8.1 Actividad antioxidante por el método ABTS	52
3.8.2 Actividad antioxidante por el método DPPH.....	54
3.8.3 Actividad antioxidante por el método FRAP	54
3.8.4 Actividad quelante.....	55
3.9 Optimización del proceso de termoultrasonido del jugo de betabel.....	56
3.10 Reproducibilidad del estudio	58
3.11 Comparación del jugo optimizado con jugo fresco y pasteurizados.....	58
3.11.1 Microbiología.....	59
3.11.2 Actividad enzimática pectinmetilesterasa y polifenoloxidasasa	60
3.11.3 Color	62
3.11.4 Índice de turbidez.....	63
3.11.5. Contenido de betalaínas	64
3.11.6. Contenido de fenoles totales.....	67
3.11.7 Actividad antioxidante	69
4. CONCLUSIONES	75
5. BIBLIOGRAFÍA.....	77

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1:.....	22
Ecuación 2.....	24
Ecuación 3.....	24
Ecuación 4.....	26
Ecuación 5.....	27
Ecuación 6.....	28
Ecuación 7.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de tamaño y forma del betabel	7
Figura 2. Partes del betabel	7
Figura 3. Estructura general de las betaninas	11
Figura 4. Etapa 1 del diseño metodológico	19
Figura 5. Etapa 2 del diseño metodológico	20
Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre el índice de turbidez en el jugo de betabel.....	40
Figura 7. Espacio de color CIE L* a* b* (CIELAB).....	43
Figura 8. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de betaninas en el jugo de betabel.	49
Figura 9. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de betaxantinas en el jugo de betabel.	50
Figura 10. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos totales del jugo de betabel.	51
Figura 11. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método ABTS.	53
Figura 12. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método DPPH.	54
Figura 13. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método FRAP.	55
Figura 14. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad quelante del jugo de betabel.	56
Figura 15. Traslape de figuras de contorno. Condición óptima de proceso	57
Figura 16. Microbiología en muestras de jugo de betabel.	60
Figura 17. Actividad residual de polifenoloxidasas en muestras de jugo de betabel.	61
Figura 18. Índice de turbidez en muestras de jugo de betabel.	63
Figura 19. Contenido de betalaínas en jugos de betabel.....	66
Figura 20. Contenido de fenoles en jugo de betabel.	68
Figura 21. Actividad antioxidante del jugo de betabel.....	71
Figura 22. Actividad quelante en muestras de jugo de betabel	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Información nutrimental del betabel	8
Tabla 2. Diseño experimental	22
Tabla 3. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre la microbiología del jugo de betabel.....	34
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del jugo de betabel termoultrasonificado.....	36
Tabla 5. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para la variable de respuesta de turbidez del jugo de betabel termoultrasonificado	40
Tabla 6. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre el color del jugo de betabel termoultrasonificado	43
Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre la actividad enzimática de polifenoloxidasas del jugo de betabel termoultrasonificado	46
Tabla 8. Efecto de la amplitud y tiempo de ultrasonido sobre el contenido y actividad antioxidante del jugo de betabel termoultrasonificado.....	48
Tabla 9. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para la variable de respuesta de betaninas del jugo de betabel termoultrasonificado	49
Tabla 10. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de actividad antioxidante y actividad quelante del jugo de betabel termoultrasonificado.....	53
Tabla 11. Valores predichos (RSM) y valores experimentales (condición óptima) de las variables que se ajustaron al modelo matemático.....	58
Tabla 12. Parámetros de color en muestras de jugo de betabel.	62

RESUMEN

El betabel (*Beta vulgaris* L.), es un tubérculo con propiedades preventivas contra varias enfermedades causadas por la formación de radicales libres, principalmente por su contenido antioxidante y de otros compuestos bioactivos. Debido a sus propiedades nutrimentales y beneficios en la salud se han explorado diversas tecnologías de conservación de *B. vulgaris* L. incluyendo la pasteurización, sin embargo, existe una gran pérdida de sus nutrientes. Actualmente existen tecnologías emergentes, como el termoultrasonido que ha demostrado la liberación de estos compuestos sin que exista una pérdida de ellos además de mantener la inocuidad de los alimentos.

El objetivo del presente trabajo fue obtener la condición óptima del proceso de termoultrasonido del jugo de betabel mediante la metodología de superficie de respuesta, evaluando la calidad microbiológica, sus propiedades fisicoquímicas, actividad enzimática, contenido y actividad antioxidante, su comparación con la pasteurización realizando los parámetros antes mencionados, así como la bioaccesibilidad intestinal *in vitro* de antioxidantes. Los parámetros usados fueron amplitud (75-85%) y tiempo (8-13 min) y la condición óptima de proceso obtenida fue comparada con dos muestras pasteurizadas (70 °C/10 min y 80 °C/20 min) y una control. Los jugos termoultrasonificados aumentaron en la estabilidad (96.70-98.64%), hubo una disminución en la carga microbiana de mesófilos aerobios y enterobacterias (3.07 y 4.29 log UFC/mL), así como inactivación de pectinmetilesterasa y polifenoloxidasas, se presentó un mayor contenido de betaninas (131.02-145.43 mg EB/100 mL) y actividad antioxidante por el método ABTS (215.69-308.78 $\mu\text{mol ET}/100$ mL). Los parámetros que se ajustaron al modelo matemático de superficie de respuesta ($R^2 > 0.90$) fueron índice de turbidez, contenido de fenoles totales, betalaínas, actividad antioxidante por ABTS, DPPH, FRAP y quelante.

La condición óptima de procesamiento fue de 80%/10.5 min, y en comparación con los jugos pasteurizados, se encontró un mayor contenido de betaninas (206.44 mg EB/100 mL), actividad antioxidante por el método ABTS (130.74 $\mu\text{mol ET}/100$ mL) y actividad quelante (77.22%), así como una disminución de microorganismos y actividad enzimática. Posterior al proceso de digestión intestinal *in vitro*, se encontró que la

muestra termoultrasonificada (TUS) tuvo mayor actividad quelante que los jugos pasteurizados y no se observó diferencia significativa ($p>0.05$) sobre el contenido de fenoles totales, actividad antioxidante por el método ABTS con respecto al pasteurizado 1 (PAST1). Estos resultados sugieren que el termoultrasonido es una tecnología que puede sustituir a la pasteurización, ya que mantiene las propiedades del jugo de betabel y mejora parámetros de calidad e inocuidad indispensables en los alimentos.

Palabras clave: betabel, jugo, termoultrasonido, antioxidantes, betalaínas, bioaccesibilidad intestinal *in vitro*.

SUMMARY

The red beet (*Beta vulgaris* L.), is a tubercle with preventive properties against several originated by free radicals proliferation, mainly for its antioxidant content in addition to the high content of other bioactive compounds. Because of its nutritional properties and health benefits, many technologies for *B. vulgaris* L. conservation have been explored, such as pasteurization, however, this one generates a great loss of its components. Currently there are emerging technologies, such as the thermoultrasound that has demonstrated an efficient release of these active compounds without any damage in addition to maintaining food safety.

The objective of the present work was to obtain the optimum condition of the thermoultrasound process of beet juice by means of the response surface methodology, evaluating the microbiological quality, its physicochemical properties, enzymatic activity, content and antioxidant activity, its comparison with pasteurization by performing the parameters mentioned above, as well as *in vitro* intestinal bioaccessibility of antioxidants.

The independent variables were amplitude (75-85%) and time (8-13 min), and the optimal process condition obtained was compared with two pasteurized samples (70 °C/10 min and 80 °C/20 min) and a control. Thermoultrasonicated juices shown an increase in stability (96.70-98.64%), a decrease in the microbial load of aerobic mesophiles as well as enterobacterial (3.07 and 4.29 log CFU/mL respectively), and there was an inactivation of pectinmethylesterase and polyphenoloxidase, it became a higher content of betanins (131.02-145.43 mg BE/100 mL) and antioxidant activity by the ABTS method (215.69-308.78 µmol TE/100 mL). The parameters that fit the mathematical response surface model ($R^2 > 0.90$) were turbidity index, total phenolic content, betalains, antioxidant activity by ABTS, DPPH, FRAP and chelating activity

The optimal processing condition of thermoultrasound was 80%/10.5 min, finding a higher content of betanins (206.44 mg BE/100 mL), antioxidant activity by the ABTS method (130.74 µmol TE/100 mL) and chelating activity (77.22%), also a decrease in microorganisms and enzymatic activity compared to pasteurized juices was observed. After the *in vitro* intestinal digestion process, it was found that the thermoultrasonicated

sample (TUS) had a higher chelating activity than the pasteurized juices and there was no significant difference ($p>0.05$) over the total phenolic content, antioxidant activity by the ABTS method with respect to the pasteurized 1 (PAST1). These results suggest that the thermoultrasound is a technology that can replace pasteurization, due to it maintains the properties of red beet juice and improves the essential quality and safety parameters in food.

Keywords: beet, juice, thermoultrasound, antioxidants, betalains, *in vitro* bioaccessibility.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Betabel

El betabel (*Beta vulgaris* L.), también conocido como remolacha, es un tubérculo comestible de color púrpura intenso con forma de bulbo; preferentemente crece en climas fríos y en México se puede cosechar durante todo el año (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2016). Pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, es originaria de regiones de clima templado de Europa y África del Norte (Amaral *et al.*, 2004; Mello *et al.*, 2008) y se conforma de tres grupos o subespecies:

- Remolacha forrajera (*Beta vulgaris* esculenta o rapa) para el consumo animal.
- Remolacha azucarera (*Beta vulgaris* saccharifera) para su utilización en la industria azucarera.
- Remolacha de mesa (*Beta vulgaris* hortensis) (*Beta vulgaris* L.) para el consumo humano (Morales, 1995).

1.2 Producción de betabel

En 2016, México produjo 70 mil toneladas de betabel, Puebla encabezó la producción con 9 mil 500 toneladas al año, seguido de Jalisco y Estado de México (SAGARPA, 2017), observándose una producción alta comparado con la producción anual de 28 mil toneladas de jícama (Fideicomiso de Riesgo Compartido [FIRCO], 2018). El Estado de Hidalgo es el 14° lugar nacional en la producción de betabel, aportando el 0.36%, con 65 toneladas, siendo Ixmiquilpan el único aportador estatal (Secretaría de Desarrollo Agropecuario [SEDAGRO], 2016), y es exportado principalmente a Estados Unidos (SAGARPA, 2016).

1.3 Consumo de betabel

Actualmente, el betabel está considerado una hortaliza de raíz, aunque en realidad se trata de un tallo engrosado bulboso y tanto las hojas como la raíz son comestibles, por

lo general, solo se come la raíz ya sea cruda, cocida, encurtida, enlatada, licuados, ensaladas, postres y en jugos (SAGARPA, 2016; SAGARPA, 2017).

El consumo de jugo de betabel puede no ser tan popular como otros jugos de frutas y vegetales como tomate, zanahoria, manzana o mango, debido a problemas percibidos de textura y coloración urinaria (Thakur & Das Gupta, 2006). Un pequeño aumento en el consumo habitual de bebidas ricas en polifenoles como el jugo de betabel, puede tener un impacto en la salud pública. Recientemente, se han creado varios productos de jugos de verduras más convenientes para tratar de aumentar su consumo, incluidas marcas populares de zumos de verduras mixtos que están disponibles en latas y botellas pequeñas (V8, Campbell Foods, Bélgica) (Wootton-Beard & Ryan, 2011), ya que ofrecen la oportunidad de que su consumo sea fácil, conveniente para el público en general y pueda contribuir positivamente a la ingesta de productos ricos en polifenoles (Wootton-Beard & Ryan, 2011). Además, beber jugo de betabel proporciona una alternativa más conveniente para consumir todo el vegetal (Kaur & Kapoor, 2002; Pitalua, Jimenez, Vernon-Carter & Beristain, 2010).

1.4 Morfología del betabel

El betabel se distingue por sus hojas de verde intenso, pecíolos rojos o púrpura y sus raíces globosas de color morado, presentan anillos concéntricos en corte transversal, es una planta bienal; florece y produce semilla en el segundo año (Cásseres, 1981). El betabel se puede encontrar en diferentes formas y tamaños (figura 1) y está formado por las siguientes partes de la raíz que se presenta sobre la superficie y dentro del suelo:

- Hojas (No. 1 de la figura 2): están implantadas sobre la corona.
- Corona (No. 2 de la figura 2): es la parte superior provista de hojas que en realidad representa el tallo.
- Cuello (No. 3 de la figura 2): es la parte más reducida y se conoce también como parte intermedia (Aguirre, 1972).

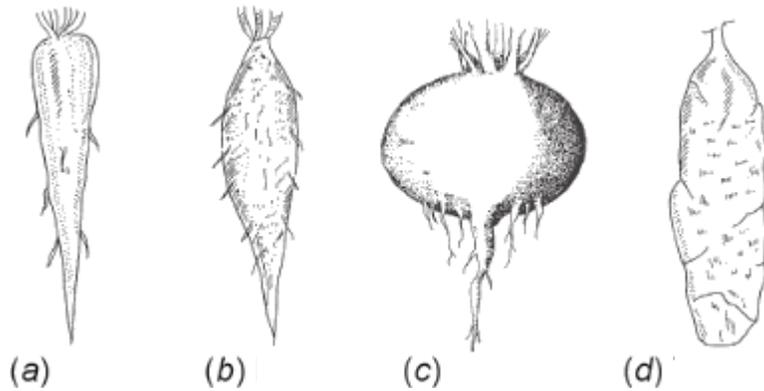


Figura 1. Tipos de tamaño y forma del betabel donde: (a) cónica, (b) fusiforme, (c) globular y (d) cilíndrica

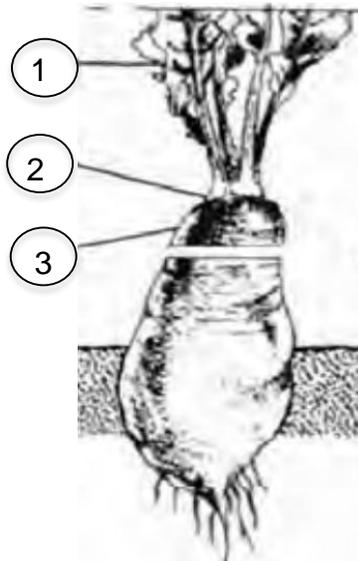


Figura 2. Partes del betabel donde: (1) hojas, (2) corona y (3) cuello

1.5 Composición química

El betabel es reconocido por su potencial antioxidante (Singh & Singh, 2013), el extracto crudo de la raíz tiene alto contenido de betalaínas y mayor concentración fenólica total en extractos de tallos que las raíces (Haj Koubaier *et al.*, 2014). Además, contiene una cantidad significativa de vitamina C y vitaminas B1, B2, niacina, B6, B12, mientras que las hojas son una excelente fuente de vitamina A (Singh & Singh, 2013),

también es rico en nitrato inorgánico (NO_3^-) que generalmente varía de 110 a 3670 mg de NO_3^-/kg (Siervo *et al.*, 2013), así como muchos otros compuestos que promueven la salud como potasio, magnesio, ácido fólico, hierro, zinc, calcio, fósforo, sodio, niacina, biotina y fibra soluble (Tabla 1).

Tabla 1. Información nutrimental del betabel

NUTRIENTE (UNIDAD)	VALOR POR 100 g
Agua (g)	87.58
Energía kcal	43
Proteínas (g)	1.61
Grasas (g)	0.17
Carbohidratos (g)	9.56
Fibra total (g)	2.8
Azúcares totales (g)	6.76
Calcio (mg)	16
Hierro (mg)	0.80
Magnesio (mg)	23
Fósforo (mg)	40
Potasio (mg)	325
Sodio (mg)	78
Vitamina C (mg)	4.9
Folato (EDF) (μg)	109
Vitamina A (UI)	33

Fuente: USDA (por sus siglas en inglés), 2018; Chhikara *et al.*, 2019

Además, contiene enzimas importantes que pueden tener un impacto negativo en la calidad de los productos vegetales durante el almacenamiento como lo son la polifenoloxidasa (PPO) y la pectinmetilesterasa (PME). PPO (número de la Comisión de Enzimas - CE: 1.14.18.1) es responsable del ennegrecimiento y degradación de los pigmentos naturales y otros polifenoles, lo que lleva a la decoloración y la pérdida de actividad antioxidante (Chakraborty, Baier, Knorr & Mishra, 2015). PE (CE: 3.1.1.11)

está involucrada en la descomposición de la pectina y otros materiales de la pared celular, lo que resulta en un producto con viscosidad reducida y propiedades organolépticas indeseables (Chakraborty *et al.*, 2015). El consumo de betabel podría ser recomendable para reducir los efectos del estrés oxidativo y evitar la formación de radicales libres, debido a su contenido de antioxidantes.

1.5.1 Antioxidantes en el betabel

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias, como las llamadas especies reactivas de oxígeno (\bullet ERO) o \bullet ROS por sus siglas en inglés (Reactive Oxygen Species) (Núñez, 2011). Este término incluye radicales de oxígeno, como radicales superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroxilo (OH^{\bullet}), peroxilo (RO_2^{\bullet}) e hidroperoxilo (HO_2^{\bullet}), y ciertos agentes oxidantes no radicales, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) y ozono (O_3), que se pueden convertir fácilmente en radicales (Halliwell & Gutridge, 1989) y cuyas reacciones pueden provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades (Llancari & Matos, 2011).

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el enzimático o endógeno (sintetizados por el organismo) y el no enzimático o exógeno (provenientes de fuentes externas), los cuales pueden actuar en el espacio intracelular y el extracelular (Uttara *et al.*, 2009; Zamora, 2007). Las defensas antioxidantes enzimáticas incluyen superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT), glutatión (GSH) (Mates, 2000) y el sistema no enzimático está integrado principalmente por las vitaminas A, E, C, carotenoides, polifenoles y los minerales selenio y zinc (Zamora, 2007). Además, también se ha reportado que las betacianinas y betaxantinas poseen actividad antioxidante, por lo que su consumo se asocia a la protección contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Butera *et al.*, 2002; Stintzing, Schieber, & Carle, 2002). Asimismo, los polifenoles son un grupo de pigmentos vegetales con poder antioxidante que tienen más de un grupo fenol en cada molécula y son un grupo extenso de sustancias presentes en los alimentos de origen vegetal (Quiñones, Miguel & Aleixandre, 2012).

En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en antioxidantes como los polifenoles puede mejorar la salud (Järcau, 2013) previniendo enfermedades crónicas no transmisibles como algunos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, entre otras (Zamora, 2007).

El betabel es uno de los vegetales más potentes con respecto a la actividad antioxidante (Vinson, Hao, Su & Zubik, 1998; Žitňanová *et al.*, 2006). Contiene compuestos fenólicos y ácido ascórbico (Bagabil *et al.*, 2018), así como betaninas (300-600 mg/kg) y en concentraciones más bajas isobetaninas, betanidinas y betaxantinas (Kanner, Harel & Granit, 2001), y su biodisponibilidad es tan alta como la de los flavonoides, además, las betalaínas proporcionan protección contra el estrés oxidativo (Kanner, Harel & Granit, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005). Las propiedades antioxidantes de las betacianinas son atribuibles a sus grupos fenólicos libres, se considera que el grupo amino cíclico del resto de ácido betalámico actúa como donante de hidrógeno tanto en betacianinas como en betaxantinas (Kanner, Harel & Granit, 2001).

1.5.1.1 Betalaínas

Las betalaínas son pigmentos que contienen nitrógeno, son solubles en agua, se encuentran en altas concentraciones en el betabel (*Beta vulgaris*) y constan de dos subclases: betacianinas (pigmentos rojo-violeta) (Figura 3A) y betaxantinas (pigmentos amarillo-naranja) (Figura 3B) (Delgado-Vargas, Jiménez, & Paredes-López, 2000; Stintzing & Carle, 2004). Las betaxantinas son productos de condensación de ácido betalámico (Figura 3C) y aminoácidos o aminas, respectivamente. Los productos de condensación de ácido betalámico y ciclo-Dopa [ciclo-3- (3,4-dihidroxifenilalanina)], se conocen comúnmente como betacianinas debido a su color violeta intenso (Slavov, Karagyozev, Denev, Kratchanova & Kratchanov, 2013), y la estabilidad de las betalaínas varía con diferentes niveles de actividad de agua, temperaturas, exposición a oxígeno y luz (Abadio *et al.*, 2004; Cano-Chauca *et al.*, 2005; Quek, 2007).

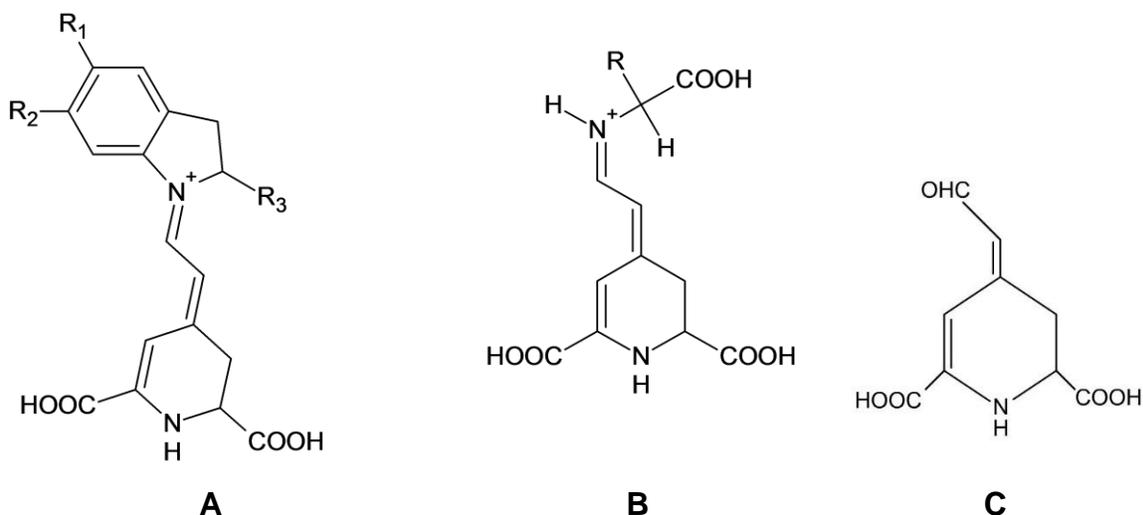


Figura 3. Estructura general de las betaninas (A), betaxantinas (B) y ácido betalámico (C)

1.6 Efectos terapéuticos del betabel

En las antiguas civilizaciones solo se comían las hojas, y la raíz se usaba como medicamento para tratar dolores de cabeza así como de muelas (SAGARPA, 2017). También, ha sido recomendado como un material con propiedades preventivas del cáncer y proporciona una manera de reforzar el sistema inmune. Los anticancerígenos específicos están ligados a las betalainas, lo que ayuda a combatir el cáncer (Wu *et al.*, 2006; Sreekanth *et al.*, 2007)

Además, varias partes de esta planta se usan en sistemas medicinales como antioxidantes, antidepresivos, antimicrobianos, antifúngicos, antiinflamatorios, diuréticos, expectorantes y carminativos (Chawla *et al.*, 2016). Es uno de los alimentos naturales que aumenta la energía en los atletas ya que tiene uno de los niveles más altos de nitratos y azúcar (Lee, Wettasinghe, Bolling, Ji, & Parkin Kirk, 2005).

El consumo regular de betabel, además de proteger contra las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, mantiene una buena digestión (Chandran, Nisha, Singhal & Pandit, 2012), por lo que es considerado un excelente suplemento dietético (Lee, Wettasinghe, Bolling, Ji, & Parkin, 2005). Su contenido de cobre ayuda a que el hierro esté más disponible para el cuerpo y ha sido utilizada como tratamiento para fiebres y estreñimiento (Yashwant, 2015).

Las betalainas son biodisponibles para el organismo humano penetrando desde el tracto digestivo hasta el torrente sanguíneo (Netzel *et al.*, 2005), mostrando actividad antioxidante (Allegra, Tesoriere & Livrea, 2007; Gliszczyńska-Świgło, Szymusiak & Malinowska 2006; Pedreno & Escribano, 2000), convirtiéndose en potentes agentes antiinflamatorios, ya que parecen estar mediados por la interferencia con cascadas de señalización proinflamatorias (Clifford *et al.*, 2015).

El nitrato (NO_3) obtenido a través de una fuente de betabel se metaboliza a nitrito (NO_2), que puede reducirse aún más para producir óxido nítrico (NO) (Hobbs *et al.*, 2012; Lundberg, Weitzberg & Gladwin, 2008). Y una de las funciones más importantes del NO endógeno es mantener la función endotelial (Davignon & Ganz, 2004; Hobbs *et al.*, 2012). El endotelio juega un papel crítico en la regulación de la homeostasis vascular al mantener la actividad trombótica, la función plaquetaria, tono vascular y el equilibrio entre la liberación de vasodilatadores y agentes vasoconstrictores (Davignon & Ganz, 2004). El NO y el NO_2 son agentes vasoactivos con la capacidad de aumentar la vasodilatación, disminuir la presión arterial (PA) y mejorar la función cardiovascular tanto en individuos sanos (Coles & Clifton, 2012; Miller *et al.*, 2012) como en pacientes hipertensos (Kapil *et al.*, 2014). La administración dietética de NO_3 causa una reducción aguda de la presión arterial sistólica y diastólica en sujetos sanos, después de la ingestión de 500 mL de jugo de betabel (Webb *et al.*, 2008). Además, la ingesta de betabel se ha asociado con un mejor rendimiento y una mayor tolerancia a la fatiga durante el ejercicio (Lundberg *et al.*, 2009; Breese *et al.*, 2013).

Por otro lado, el NO media muchas de las funciones del endotelio, un agotamiento de su disponibilidad, como se ve con el envejecimiento, se ha señalado como la causa principal de la disfunción endotelial (Davignon & Ganz, 2004). La disfunción endotelial se propone como un factor de riesgo primario para varios trastornos cardiovasculares y se ha implicado en la patogénesis de la hipertensión y la aterosclerosis (Joris & Mensink, 2013; Lidder & Webb, 2013). Por lo tanto, el betabel, como donante natural de NO, se ha explorado como un enfoque nutricional para preservar o restaurar la función endotelial (Clifford *et al.*, 2015). La función cognitiva se deteriora con la edad y uno de los eventos patológicos clave que precede a su desarrollo es la reducción del

flujo sanguíneo cerebral (Bond *et al.*, 2013; Bondonno *et al.*, 2014, Spilt *et al.*, 2005). De hecho, una disminución o deterioro relacionado con la edad en la perfusión cerebral se ha implicado en varios trastornos neurológicos asociados con una capacidad cognitiva deficiente, como daño cerebral, demencia clínica y enfermedad de Alzheimer (Poels *et al.*, 2008). Uno de los principales factores desencadenantes y de riesgo para la aparición y el desarrollo de la hipoperfusión cerebral es una alteración de la función neurovascular, un efecto que está, en parte, mediado por la actividad deteriorada de NO (Poels *et al.*, 2008). Una capacidad disminuida para generar NO puede afectar la función normal del metabolismo de la energía cerebral (el suministro de glucosa) y la actividad neuronal (la comunicación celular), que durante un periodo crónico podría inducir neurodegeneración y déficits cognitivos (Bondonno *et al.*, 2014; Spilt *et al.*, 2005). Por lo tanto, es concebible que un generador de NO como el betabel tenga el potencial de mejorar el flujo sanguíneo cerebrovascular y desafiar los deterioros en la función cognitiva (Clifford *et al.*, 2015). Para la conservación durante su producción, almacenamiento y consumo, el jugo de betabel es sometido a tratamientos térmicos convencionales como la pasteurización.

1.7 Procesamiento de jugos

1.7.1 Pasteurización

Los tratamientos térmicos, son los métodos más utilizados para estabilizar productos porque tienen la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas (Cruz, Vieira & Silva, 2008). Entre estos tratamientos el más comúnmente usado es la pasteurización (≥ 70 °C), considerado como un procedimiento relativamente suave, que contribuye con el aumento de la vida útil del alimento sobre el que se aplica (Maca, Osorio & Mejía, 2013). La pasteurización es eficiente en la prevención del deterioro microbiano para la conservación de jugos y néctares, sin embargo, el calor aplicado puede causar cambios que afecten la calidad del producto, produce pérdidas significativas de nutrientes como compuestos fenólicos y volátiles, ocasionando cambios en el sabor (Jeyamkondan, 1999; Rodriguez-Amaya & Amaya-Farfan, 2018),

es por ello que se deben emplear tratamientos alternativos con la finalidad de proporcionar un producto con menores daños en sus propiedades nutricionales a beneficio del consumidor, como pueden ser altas presiones hidrostáticas (Wang, Huang, Hsu & Yang, 2016), pulsos eléctricos (Barbosa-Cánovas & Zhang, 2019), atmósferas modificadas (Fagundes *et al.*, 2015) y ultrasonidos (Muthukumarappan *et al.*, 2016).

1.7.2 Ultrasonido

El ultrasonido, es una tecnología emergente utilizada para el procesamiento y conservación de alimentos (Knorr *et al.*, 2004) y es definido como una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 2000 vibraciones por segundo (Hoover, 2000). Uno de los usos del ultrasonido es romper las paredes celulares biológicas para liberar el contenido, es decir, extraer compuestos orgánicos contenidos en el cuerpo de plantas y semillas (Mason, Paniwnyk & Lorimer, 1996). Existen dos formas de aplicación del ultrasonido en alimentos: baja y alta intensidad o potencia. El uso de ultrasonido de alta potencia (20-200 kHz) ofrece buenas perspectivas para muchas aplicaciones en industrias alimentarias, y ha mostrado potencial logrando los niveles deseados de seguridad microbiana en el producto. El efecto de destrucción microbiana y liberación de compuestos bioactivos se ha atribuido al fenómeno de cavitación (Muthukumarappan *et al.*, 2016; Suslick, 1988), donde las cavidades/microburbujas experimentan diferentes etapas de cavitación, y posteriormente se colapsan generando violentos puntos calientes con condiciones localizadas de temperaturas de alrededor de 5,000 °C, y presiones de alrededor de 500 atm junto con turbulencia de líquidos y efectos de alto cizallamiento (Piyasena, Mohareb & McKellar, 2003).

La mayoría de las aplicaciones de ultrasonido se limitan a alimentos líquidos, incluidos jugos de frutas y vegetales, batidos y leche, es eficaz contra diversos patógenos transmitidos por los alimentos (Tiwari *et al.*, 2008). Se considera que el ultrasonido es más efectivo combinado con otros métodos como altas presiones y/o con un

tratamiento suave con temperaturas controladas, como lo es el termoultrasonido (Demirdoven & Baysal, 2009).

1.7.2.1 Termoultrasonido

La termoultrasonificación es el sometimiento de un método de ultrasonido combinado con calor moderado a no más de 50 °C, sin embargo, la temperatura aumenta respecto al nivel de tratamiento aplicado es por ello que se requiere un control de la temperatura, y es una herramienta efectiva para la inactivación microbiana y la retención de nutrientes en los alimentos (Zenker, Heinz & Knorr, 2003). Esta es una excelente alternativa al tratamiento térmico ya que se ha comprobado que tiene un efecto negativo mínimo sobre la calidad de los jugos de frutas como en el jugo de naranja y néctares (Tiwari *et al.*, 2008). Se ha demostrado que la misma combinación de efectos, tiene una acción desactivadora bastante efectiva sobre varias enzimas de interés en la tecnología de los alimentos (López, *et al.*, 1994; López & Burgos, 1995), como la pectinmetilesterasa (PME) y la polifenoloxidasas (PPO) las cuales afectan la calidad de los jugos, sin alterar sus propiedades nutricionales (Cervantes *et al.*, 2017; Ramírez *et al.*, 2018).

Asimismo, se ha comparado el efecto de esta tecnología con el tratamiento de pasteurización sobre el contenido de antocianinas en jugos, mostrando mayor retención de estos compuestos con el tratamiento por termoultrasonido (Dubrović *et al.*, 2011), mayor retención de compuestos bioactivos, inactivación total de microorganismos, así como de las enzimas pectinmetilesterasa, polifenoloxidasas y peroxidasa (Abid *et al.*, 2014).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El betabel es un tubérculo que tiene una gran producción a nivel nacional, su consumo no es tan popular como otros tubérculos, frutas o vegetales, debido a una baja aceptación por su sabor, textura y coloración urinaria generada por su ingestión. Su principal forma de consumo es en ensaladas y jugos frescos y/o procesados tecnológicamente, sin embargo, el proceso comúnmente utilizado en los jugos es la pasteurización, la cual en la mayoría de los alimentos genera pérdidas de compuestos termolábiles como los compuestos bioactivos considerados beneficiosos para salud. Por otra parte, en la actualidad, existen personas que padecen o tienen riesgo de padecer enfermedades que pueden prevenirse cuidando su alimentación, y a su vez, ha aumentado una parte de esta población que se preocupa por su salud y por los alimentos que ingieren, por lo que demandan alimentos que aporten un efecto positivo más marcado sobre su salud, que tenga buenas características organolépticas y que asimismo, sea fácil de consumir debido al estilo de vida que llevan.

JUSTIFICACIÓN

México es un gran productor de betabel, siendo Puebla el estado que encabeza esta producción, su consumo es bajo, sin embargo, el betabel es uno de los alimentos que contiene alto nivel de antioxidantes, además de otros muchos compuestos importantes para mantener la salud como el potasio, ácido fólico, hierro, calcio, niacina, biotina, vitamina B6, fibra soluble, nitratos, entre otros.

Por otro lado, el ultrasonido es una tecnología emergente que puede ser combinado con un tratamiento térmico (termoultrasonido, ≤ 50 °C), la cual no contamina el medio ambiente y se ha utilizado en la producción de jugos de frutas y vegetales, obteniendo mejores propiedades nutricionales y antioxidantes en comparación con la tecnología convencional que es la pasteurización (≥ 70 °C), ya que no requiere de altas temperaturas. Esta tecnología emergente disminuye la carga microbiana proporcionando una mayor inocuidad, así como la inactivación de enzimas mejorando su tiempo de conservación, manteniendo e incluso incrementando sus componentes bioactivos, por lo que el termoultrasonido podría aplicarse en el betabel, obteniendo como producto un jugo termoultrasonificado, esto podría generar un producto de fácil consumo y con mejores propiedades nutricionales. Además, el jugo de betabel termoultrasonificado, podría ser consumido por deportistas de alto rendimiento, por personas que padecen anemia, como posible coadyuvante para pacientes con enfermedades no transmisibles o para el consumidor en general con un efecto positivo a la salud.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Obtener la condición óptima del proceso de termoultrasonido del jugo de betabel evaluando su calidad microbiológica, propiedades fisicoquímicas, contenido y actividad antioxidante y su comparación con la pasteurización.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la carga microbiológica de mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB) en el jugo de betabel.
2. Evaluar las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez titulable, sólidos solubles totales (SST), color, viscosidad, índice de estabilidad, índice de turbidez e índice de oscurecimiento) del jugo de betabel.
3. Determinar la actividad residual de las enzimas pectinmetilesterasa (PME) y polifenoloxidasasa (PPO) en el jugo de betabel.
4. Determinar el contenido de los compuestos bioactivos (compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, betalaínas) y la actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP, así como la actividad quelante del jugo de betabel.
5. Obtener el mejor tratamiento utilizando termoultrasonido por medio del diseño de superficie de respuesta.
6. Comparar las variables de respuestas de la condición óptima de proceso de termoultrasonido con dos muestras pasteurizadas y un control.
7. Comparar la bioaccesibilidad intestinal *in vitro* de antioxidantes del jugo optimizado con el jugo fresco y pasteurizado.

2. METODOLOGÍA

2.1. Diseño experimental

En la figura 4 (etapa 1), se muestran los pasos que se siguieron para la obtención de la condición óptima de proceso de termoultrasonido del jugo de betabel y en la figura 5 (etapa 2), se aprecia la fase de reproducibilidad del estudio y la fase de comparación de la condición óptima con los pasteurizados y un control.

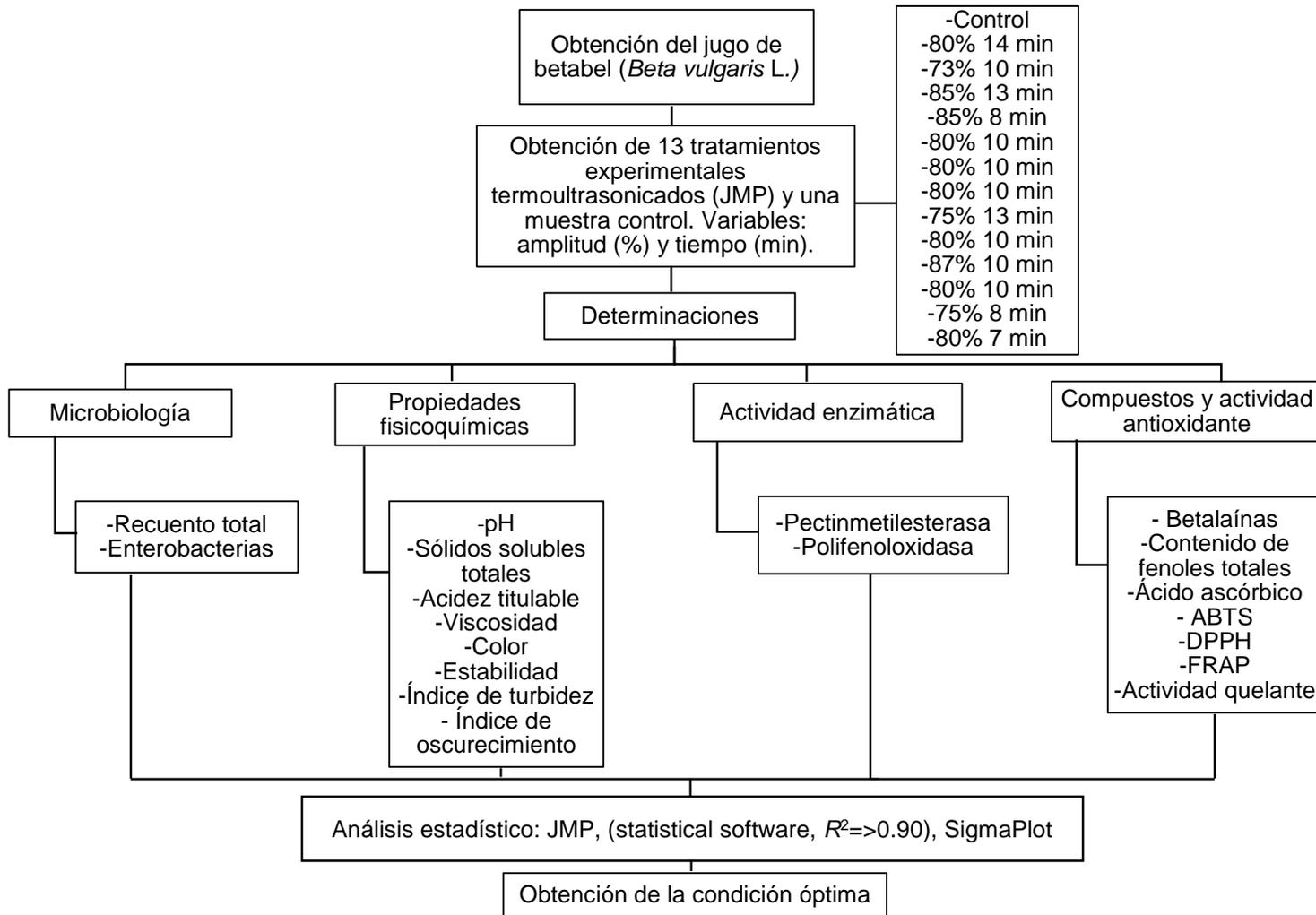


Figura 4. Etapa 1 del diseño metodológico

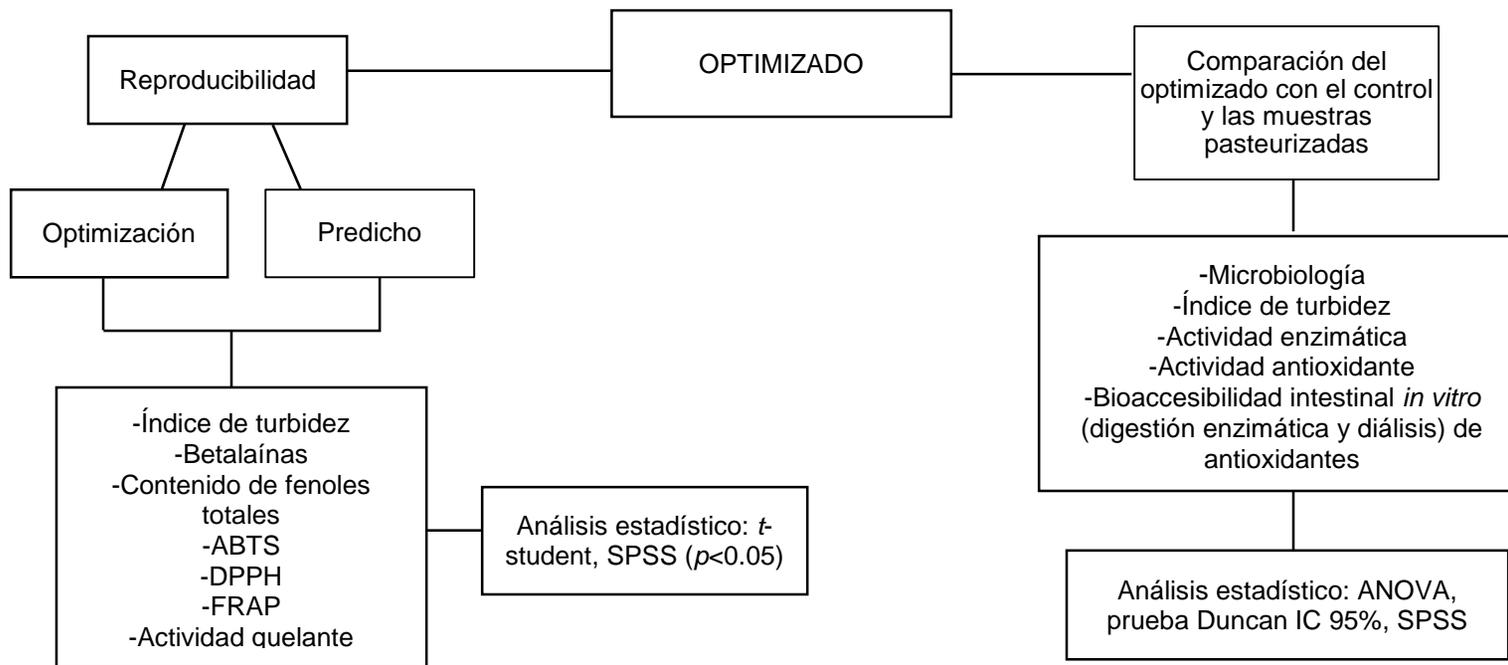


Figura 5. Etapa 2 del diseño metodológico

2.2 Tratamientos

Los 13 tratamientos experimentales fueron obtenidos mediante la metodología de superficie de respuesta para obtener la condición óptima de proceso de termoultrasonido, se utilizaron 400 mL de muestra llevándolos a un procesador de ultrasonido (VCX-1500, Sonics & Materials Inc., Newtown, CT, USA) con una potencia de 1500 W, frecuencia constante de 20 kHz y tiempos de impulso de onda de 2s encendido y 4s apagado. Los parámetros de amplitud usados fueron de 75-85% y tiempo de 8-13 min con temperaturas de salida de 50 ± 2 °C. Dos tratamientos de pasteurización fueron llevados a cabo (70 °C/20min y 80 °C/10 min) (Rakin *et al.*, 2007; Panghal *et al.*, 2017, respectivamente) y una muestra de jugo fresco fue utilizada como control para compararlo con el proceso óptimo de termoultrasonido.

2.3 Diseño experimental de los ensayos de superficie de respuesta

El diseño experimental que se empleó fue un diseño central rotatorio, compuesto por dos variables independientes (amplitud y tiempo), cada una en cinco niveles, ordenados aleatoriamente utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM, por sus siglas en inglés: Response Surface Methodology).

Las dos variables independientes fueron el porcentaje de amplitud de 75-85% (X1, %) y tiempo de 8-13 min (X2, min) que fueron seleccionados en base a los valores obtenidos en experimentos preliminares. Los valores codificados de las variables independientes fueron $-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$. Las variables fueron introducidas en el programa RSM y este arrojó 13 tratamientos (Tabla 2), de los cuales 5 fueron puntos centrales, 4 puntos factoriales y 4 puntos axiales, a una distancia de 1.414 de cada diseño central. El análisis de regresión se realizó sobre los datos de las variables dependientes obtenidos por triplicado como observaciones efectuadas por las condiciones de extracción y el valor medio de cada atributo se tomó como la respuesta (Y). Los datos experimentales se sometieron a análisis de regresión lineal múltiple utilizando JMP® 5.1 software estadístico (SAS Institute, Cary, NC, USA) y se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden, dado en la siguiente ecuación:

Ecuación 1:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2$$

donde Y_i es la respuesta prevista, β_0 es el coeficiente constante, β_1 y β_2 son los coeficientes de regresión en sus términos lineales, β_{11} y β_{22} son coeficientes de regresión cuadráticos y β_{12} es el coeficiente de interacción.

Las variables de respuesta (determinaciones) que se ajustaron al modelo matemático alcanzando $R^2 \geq 0.90$ se interpretaron tras la elaboración de figuras tridimensionales y de contorno, estas últimas utilizadas para hallar la condición óptima de proceso mediante un traslape, ambas figuras fueron realizadas a partir del programa SigmaPlot 12.3 (Systat Software Inc).

Tabla 2. Diseño experimental

Diseño experimental de tratamientos por termoultrasonido

Tratamiento	Patrón	Amplitud (%)	Tiempo (min)
1	0A	80	14
2	a0	73	10
3	++	85	13
4	+-	85	8
5*	00	80	10
6*	00	80	10
7*	00	80	10
8	-+	75	13
9*	00	80	10
10	A0	87	10
11*	00	80	10
12	--	75	8
13	0a	80	7

*Puntos centrales

2.4 Obtención de la materia prima y del jugo de betabel

El betabel se obtuvo de un mercado local en Tulancingo, Hidalgo, seleccionando solo aquellos que no tuvieran daño físico. Se eliminaron las hojas, se lavaron con agua y fueron desinfectados en condiciones asépticas con un desinfectante comercial (Microdyn®), dejándolos escurrir para posteriormente remover la raíz. El jugo se obtuvo mediante un extractor comercial (Standard, Turmix®, México).

2.5 Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron mediante la técnica de microgota descrita por Strahsburger *et al.* (2016), usando 100 microlitros de jugo de betabel diluido en agua peptonada 0.1% previamente esterilizada. Se obtuvieron 3 diluciones decimales, se utilizaron las diluciones 1:10, 1:100, 1:1000 e inoculación directa; y se inocularon 20 μ L de cada dilución. El recuento de microorganismos mesófilos aerobios se hizo en agar para métodos estándar (PCA) con una incubación (LSI-3016A, Labtech, Korea) de 48 horas a 30 °C. El recuento de enterobacterias (EB) fue en agar bilis rojo violeta glucosado (VRBG) con una incubación de 24 horas a 37 °C. Se realizó un conteo en placa de las colonias observadas, las cuales se multiplicaron de acuerdo a la dilución correspondiente y los resultados fueron calculados obteniendo el logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra expresados de la siguiente manera: log UFC/mL.

2.6 Propiedades fisicoquímicas

2.6.1 pH

El pH indica el logaritmo negativo de la concentración de iones de hidrógeno presentes en el producto (Briones-Rodríguez *et al.* 2005), para la medición de las muestras se utilizó un potenciómetro (HANNA, PH210, Rumania).

2.6.2 Sólidos solubles totales (SST)

Los sólidos solubles hacen referencia a los azúcares contenidos en la muestra, estos se determinaron con la ayuda de un refractómetro (Trading Co., Brix/ATC FG-113, Chincan) y los resultados fueron expresados en °Brix (Rojas & Andres, 2000).

2.6.3 Acidez titulable

La acidez titulable es representada por los ácidos orgánicos libres y se mide con su neutralización a partir de una solución base. Esta se determinó por el método de la

AOAC (942.15, 1999), se procedió a medir 1 mL de la muestra y 9 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer, se utilizaron 3 gotas del indicador fenolftaleína y se homogeneizó; se comenzó a titular hasta observar un cambio de color. Se registraron los mililitros gastados de NaOH para neutralizar cada muestra. La acidez titulable se expresó de acuerdo a la siguiente ecuación:

Ecuación 2

$$\% \text{ ácido cítrico} = (V * N * 0.064M/1) * 100$$

Donde:

V: Volumen de solución de hidróxido de sodio 0.01 N gastado en la titulación de la muestra en mL.

N: Normalidad de la solución de hidróxido de sodio (0.01).

0.064: constante

M: Volumen de la muestra en mL.

2.6.4 Índice de estabilidad

El índice de estabilidad se valoró determinando el porcentaje de sólidos sedimentados (% SS) después de la centrifugación (Hamilton Bell, V6500, USA), mediante la metodología de Zafra-Rojas *et al.*, (2013). El porcentaje de sólidos sedimentados (% SS) se calculó con la siguiente fórmula:

Ecuación 3

$$\% \text{ SS} = (\text{Tubo 2} - \text{Tubo 1}) * 100$$

Donde:

% SS= porcentaje de sólidos sedimentados

Tubo 1= peso del tubo vacío

Tubo 2= peso del tubo con residuo

2.6.5 Viscosidad

La viscosidad, definida como la resistencia derivada de la falta de deslizamiento de los compuestos de un líquido, proporcional a la velocidad con que se separan unas de

otras dentro de él. Para medirla se utilizó un viscosímetro (Brookfield DV-E USA), con una aguja LV-1 a 60 rpm, se añadieron 35 mL del jugo en tubos de centrifuga a temperatura de 20 °C, los valores fueron expresados en centipoises (cps) (Pérez-Trejo *et al.*, 2010).

2.6.6 Índice de turbidez

El índice de turbidez es medido por la absorbancia registrada tras utilizar un espectrofotómetro, que representa las partículas más pequeñas que tienden a ser suspendidas en una muestra líquida y que disminuyen el paso de la luz. Esta determinación se realizó de acuerdo con la metodología de Versteeg (1980). Se centrifugaron (Hamilton Bell, V6500, USA) 5 mL de muestra a 3,400 rpm durante 10 minutos. Posteriormente se leyó la absorbancia del sobrenadante obtenido a 660 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), utilizando agua destilada como blanco (Versteeg 1980).

2.6.7 Índice de oscurecimiento

El índice de oscurecimiento reporta la pureza del color marrón, es un parámetro importante en los procesos donde se produce el pardeamiento enzimático o no enzimático, este se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Meydav *et al.* (1977), con modificaciones. Se centrifugaron (Hamilton Bell, V6500, USA) 15 mL de muestra durante 10 minutos a 3,400 rpm. En un tubo, se adicionó 5 mL del sobrenadante y 5 mL de etanol (95 %) y se volvió a centrifugar a las mismas condiciones. La absorbancia del sobrenadante fue medida a 420 nm en el lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA).

2.6.8 Color

Para esta medición se utilizó un colorímetro portátil (500SM-508D, Minolta CM-80, Japón), y se realizó mediante el método descrito por Aular *et. al.*, (2002), registrando las coordenadas L^* , a^* , b^* , términos de la Comisión Internacional en Iluminación (CIE,

por sus siglas en francés), donde L^* indica luminosidad que va de 0 a 100, e indica negro y blanco respectivamente; a^* el eje de cromaticidad entre el verde (-) y el rojo (+), y b^* el eje entre el azul (-) y el amarillo (+). Para calcular cromaticidad o saturación de color se utiliza la siguiente fórmula ($C = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$) y es la distancia desde el eje de luminosidad (L^*), definido como el nivel de desviación del gris al color cromático puro, por lo tanto, los valores altos indican una alta saturación de color (Morales & Jiménez, 2001; Zhao *et al.*, 2004).

El ángulo Hue, es el matiz del color en una rueda de colores, donde $0/360^\circ$ es magenta o rojo, 90° es amarillo, 180° es azul-verde y 270° es azul (Stintzing, Trichterborn & Carle, 2006), obteniendo estos valores mediante las siguientes ecuaciones dependiendo el cuadrante en que la coordenada está localizada (McLellan, Lind & Kime, 1994):

Ecuación 4

Primer cuadrante (+a, +b) = ($^\circ h = \text{tg}^{-1} (b^* / a^*)$)

Segundo cuadrante (-a, +b) = ($^\circ h = 180 + \text{tg}^{-1} (b^* / a^*)$)

Tercer cuadrante (-a, -b) = ($^\circ h = 180 + \text{tg}^{-1} (b^* / a^*)$)

Cuarto cuadrante (+a, -b) = ($^\circ h = 360 + \text{tg}^{-1} (b^* / a^*)$)

2.7 Actividad enzimática

2.7.1 Actividad residual de pectinmetilesterasa (PME)

La determinación de la actividad residual de la enzima PME se realizó mediante la titulación del grupo carboxil, de acuerdo con la metodología de Kimball (2012), con modificaciones. Se realizó añadiendo 40 mL de pectina cítrica al 1% en una solución de NaCl 2N a 10 mL de jugo. La mezcla se ajustó a pH 7.0 con NaOH 1N y una vez alcanzado el pH 7.0, se agregó NaOH 0.05 N hasta llegar a un pH entre 7.6 y 7.8. Posteriormente, se añadieron 100 μL de NaOH 0.05 y se midió el tiempo requerido para que la muestra regrese al pH de 7.0. Una unidad de PME (UPME) fue definida como la liberación de 1 μmol del grupo carboxil por minuto a pH de 7.0 a 30°C . Para

el cálculo de la actividad enzimática se utilizó la siguiente fórmula:

Ecuación 5

$$UPME/mL = (0.05N NaOH) (0.10 mL NaOH) / (10 mL muestra) (minutos)$$

Los valores fueron convertidos a % de actividad residual (AR) con respecto a la muestra control, la cual representa el 100% de actividad de PME.

2.7.2 Actividad residual de polifenoloxidasa (PPO)

Para analizar la actividad de la PPO, se emplean métodos como la medición de la absorción de oxígeno, la desaparición de compuestos fenólicos, la formación de un intermediario en la reacción o la formación del color café mediante espectrofotometría. Se midió a 420 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu UV 1601, Kyoto, Japón), de acuerdo con la metodología reportada por Cano *et al.* (1997) con modificaciones.

El extracto de la enzima se obtuvo mezclando 5 mL de muestra con 5 mL de buffer McIlvaine (pH 6.6). Esta mezcla fue centrifugada (Allegra 25TM, Beckman Coulter, California, USA) a 4 °C, a 10,000 rpm por 40 min y posteriormente se filtró con papel Whatman no. 1. Una vez obtenido el extracto, se tomaron 0.75 mL y se añadieron 3 mL de buffer McIlvaine/catecol previamente preparado (0.7 M). Una unidad de actividad enzimática (UAE) es definida como 0.001 ΔA_{420} /min/mL. Los valores fueron convertidos a % de actividad residual con respecto a la muestra control, la cual es el 100 % de actividad de PPO.

2.8 Determinación de compuestos bioactivos

2.8.1 Determinación de betalaínas

El contenido de betaxantinas y betacianinas en los extractos se determinaron según el método de Stintzing, Schieber y Carle (2002) con una lectura a 538 nm y 480 nm, respectivamente, con lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC

Junior, USA). La absorbancia se obtuvo para calcular la concentración de betalaínas para cada muestra. El contenido de betalaínas (BC) se calculó con la siguiente fórmula:
Ecuación 6

$$BC \text{ (mg/L)} = [(A \times FD \times MW \times 1000) / (e \times l)]$$

Donde:

A= absorbancia

FD= Factor de dilución

l= Volumen de la celda (0.316 cm³)

Para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas, los pesos moleculares (PM) y los coeficientes de extinción molar (e) (MW = 550 g/mol, e = 60,000 L/mol cm en H₂O) y (MW = 308 g/mol, e = 48,000 L/mol cm en H₂O) se aplicaron. El contenido de betaninas y betaxantinas se expresaron como mg equivalentes de betalaínas por 100 mL (mg EB/100 mL).

2.8.2 Determinación de contenido de fenoles

El contenido de fenoles se determinó mediante el procedimiento de Folin-Ciocalteu, basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, 1979). Se preparó una solución de Folin-Ciocalteu en una concentración de 1:10 (10 mL en 90 mL de agua destilada), una solución de carbonato de sodio (7.5 mg en 100 mL de agua destilada) y la solución de ácido gálico (AG) (15 mg en 50 mL de agua destilada). Se realizó una curva estándar de AG de 0, 100, 200 y 300 mg/L (AG/agua destilada), utilizando como blanco agua destilada. Se tomaron 100 µL de muestra de cada tratamiento, se les adicionó 500 µL de folin y 400 µL de carbonato de sodio y se dejó reposar 30 min, posteriormente se llevó a un lector de microplacas a 765 nm (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) y los resultados fueron reportados como mg equivalentes de ácido gálico por 100 mL (mg EAG/100 mL).

2.8.3 Ácido ascórbico

Se empleó el método colorimétrico descrito por Dürüst *et al.* (1997), usando el reactivo DCPI (2,6-diclorofenolinofenol) que tiene una coloración azul-violeta que al reaccionar con el ácido ascórbico (AA) se lleva a cabo una decoloración a rosa tenue o incoloro. Se inició con la preparación de DCPI con 3 mg diluido en 250 mL de agua destilada; solución de ácido oxálico 1 g en 250 mL de agua destilada; solución de 5 mg de ácido ascórbico (AA) diluido en 100 mL de la solución de ácido oxálico antes preparada y con una solución amortiguadora (3 g de acetato de sodio aforado con 10 mL de ácido acético glacial y 7 mL de agua destilada). Se construyó una curva estándar de ácido ascórbico usando concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/l (ácido ascórbico/agua destilada), utilizando como blanco ácido oxálico. Se tomaron 100 μ L de muestra, se les adicionó 100 μ L de amortiguador y 800 μ L de DCPI y se agitaron en vórtex, posteriormente la absorbancia se midió en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) a una longitud de onda de 520 nm y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 mL (mg EAA/100mL).

2.9 Determinación de actividad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante por métodos de ABTS, DPPH, FRAP, así como actividad quelante.

2.9.1 ABTS^{•+} 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)

Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones (Re *et al.*, 1999). El radical catiónico ABTS es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Se preparó la solución de ABTS al 7 mM (76.8 mg en 20 mL de agua destilada), se agregó persulfato de potasio al 2.45 mM (6.6 mg en 10 mL de agua destilada), y se dejó reposar por 16 horas, se realizó una dilución en agua destilada hasta obtener una lectura de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se elaboró una curva estándar en

concentraciones 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{mol/l}$ con una solución de trolox (3.75 mg en 50 mL de etanol). Se tomaron 100 mL de la muestra y 900 μL de ABTS, se dejó reposar por 7 min, se realizó la lectura en el lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), utilizando como blanco agua destilada. La actividad antioxidante se expresó como micromoles equivalentes de Trolox por 100 mL ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$).

2.9.2 DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

Este método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH (Chávez, 2004).

Se preparó una solución con 7.4 mg de DPPH aforando a 100 mL de etanol y se elaboró una curva estándar con Trolox (3.75 mg en 50 mL de etanol) con las concentraciones 0, 50, 100, 200 y 300 $\mu\text{mol ET/L}$, se realizó la lectura en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), se colocaron 100 μL de las muestras y 500 μL de la solución DPPH, se dejó reposar por 60 min y se midió a una longitud de onda de 520 nm. La actividad antioxidante se expresó en micromoles equivalentes de trolox en 100 mL ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$).

2.9.3 FRAP

Este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}) (Benzie & Strain, 1996). El procedimiento se inició preparando el reactivo de FRAP en una concentración 10:1:1 con 100 mL de solución de amortiguador (0.3 M a pH 3.6), 10 mL de TPTZ (10 Mm en HCl) y 10 mL de FeCl_3 (20 mM en agua destilada). Se elaboró una curva estándar de sulfato ferroso con las siguientes concentraciones de Fe (II): 0, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{M Fe (II)/l}$. Para realizar la técnica se colocaron en viales 30 μL de las muestras y 90 μL de

agua destilada y 900 µL de FRAP, las muestras se pasaron por un vórtex y se dejaron en un baño de agua (Thermo electron corporation precision, 2837, EUA) a 37 °C durante 10 min, transcurrido el tiempo se leyeron las absorbancias en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) a una longitud de onda de 593 nm. La actividad antioxidante se expresó en micromoles de hierro (II) por 100 mililitros (µmol Fe (II)/100 mL).

2.9.4 Actividad quelante

La actividad quelante se determinó según Gülcin *et al.* (2003), el cual se basa en la reacción de la molécula quelante de referencia con el ion ferroso (Fe²⁺), posteriormente el ion ferroso que no fue quelado reacciona con la ferrozina generando color. La absorbancia será medida a 562 nm utilizando un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). Para el cálculo de la actividad quelante (% AQ) se aplicó la siguiente ecuación:

Ecuación 7

$$\% \text{ AQ} = [(A_0 - A_1)/A_0] * 100$$

Donde:

A₀= absorbancia de la muestra control

A₁= absorbancia de la muestra

2.10 Bioaccesibilidad intestinal *in vitro* de antioxidantes

La bioaccesibilidad intestinal *in vitro*, se determinó mediante una fase inicial de simulación de digestión intraluminal, seguida por una fase de diálisis simulando la absorción intestinal. Lo anterior se llevó a cabo utilizando un modelo de digestión *in vitro*, siguiendo el método descrito por Miller *et al.*, (1981) con algunas modificaciones (Trinidad, Wolever, Thompson, 1996). Se tomaron 20 mL de cada muestra de jugo y se colocaron en tubos de centrifuga para ajustar su pH a 2 con ácido clorhídrico (HCl) 6 M, después se adicionaron 120 µL de solución pepsina (40 mg en 1 mL de HCl 0.1 M), los tubos se llevaron a incubar a 37 °C en agitación de 60 rpm durante 2 horas

(LSI-3016^a, Labtech, Korea). Transcurrido el tiempo se adicionaron 1.5 mL de la solución bilis-pancreatina (12.5 mg hidrato de colato de sodio, 12.5 mg de dioxicolato de sodio y 5 mg de pancreatina en 1 mL de NaHCO₃ 0.1 M) y homogeneizó. Las muestras digeridas se colocaron en membranas de celulosa de bolsas de diálisis de 15 cm con tamaño de poro de 12 KDa (se lavó con 3 mL de agua destilada para arrastrar todo el material del tubo de centrifuga), posteriormente se sometió a diálisis en una solución de NaHCO₃ pH 7.5 por 16 horas en incubación y agitación (37 °C / 60 rpm). Finalmente, la fracción bioaccesible se subdividió y reservó en congelación a -35 °C para determinar el contenido antioxidante y actividad antioxidante. Esta prueba se realizó con el optimizado comparado con las muestras pasteurizadas y el control.

2.11 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de cada determinación de los 13 tratamientos y el control, fueron sometidos a análisis estadístico mediante el programa JMP y las pruebas que se ajustaron al modelo matemático ($R^2 \geq 0.90$), se les realizaron figuras de contorno para hacer su traslape para obtener la condición óptima de proceso de termoultrasonido del jugo de betabel, esto mediante el programa SigmaPlot.

La condición óptima de proceso se realizó por triplicado, y se comparó con el valor predicho obtenido de las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático utilizando la prueba *t*-student ($p < 0.05$) para dos muestras, con la finalidad de verificar la reproducibilidad del proceso. La condición óptima de termoultrasonido se comparó con dos tratamientos de pasteurización (70 °C/20min y 80 °C/10 min) y una muestra control, mediante un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y la comparación de las diferencias entre las medias (\pm desviación estándar DE) fue con una prueba de Duncan con una confiabilidad del 95%, usando el paquete estadístico SPSS® versión 15.0, Sistema SPSS para Windows (SPSS INC, Chicago, Illinois).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis microbiológico

Los resultados de las variables de respuesta de mesófilos aerobios y enterobacterias se presentan en la tabla 3. La muestra control obtuvo valores de 6.00 log UFC/mL en mesófilos aerobios (MA) y 5.99 log UFC/mL en enterobacterias (EB). Todos los tratamientos tuvieron una reducción ≤ 2.38 log UFC/mL para mesófilos aerobios, mientras que para enterobacterias fue ≤ 2.7 log UFC/mL, siendo el tratamiento a 85% por 13 min quien obtuvo la mayor reducción (3.07 log UFC/mL) para MA y uno de los 5 puntos centrales (80% y 10 min, arrojando una disminución de 4.29 log UFC/mL, respectivamente. Esta reducción es debido al daño de la pared celular de las bacterias (Bath *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2007) causado por los mecanismos físicos y químicos combinados que ocurren durante la cavitación, la formación de radicales libres y peróxido de hidrógeno que adelgaza la membrana celular microbiana (Oyane *et al.*, 2009).

Tabla 3. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre la microbiología del jugo de betabel: mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB)

Tratamiento (%amplitud/min)	MA (log UFC/mL)	EB (log UFC/mL)
Control	6.00±0.62	5.99±0.48
80%/14min	3.27±0.03	2.20±1.05
73%/10min	3.31±0.09	2.18±0.59
85%/13min	2.93±0.30	1.96±0.45
85%/8min	3.64±0.12	2.84±0.20
80%/10min	3.88±0.41	2.72±0.29
80%/10min	3.54±0.06	2.37±0.06
80%/10min	3.37±0.23	2.18±0.00
75%/13min	3.13±0.30	2.16±0.15
80%/10min	3.62±0.22	1.70±0.00
87%/10min	3.45±0.19	2.60±0.37
80%/10min	3.35±0.16	2.44±0.38
75%/8min	3.46±0.05	3.06±0.36
80%/7min	3.42±0.32	3.29±0.07

± desviación estándar

3.2 Propiedades fisicoquímicas

En la tabla 4 se observan los valores obtenidos de las propiedades fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, estabilidad, viscosidad, índice de turbidez y oscurecimiento), realizadas en el jugo de betabel termoultrasonificado.

3.2.1 pH

De acuerdo con los valores de pH encontrados, estos fueron de 6.37 a 7.08 para las muestras tratadas por termoultrasonido, indicando valores similares a la muestra control (6.61). Los cambios en el pH después de la sonicación pueden estar relacionados con la generación de nuevos compuestos químicos en los medios debido a la acción del ultrasonido (Martínez-Flores *et al.*, 2015), como los descritos por Supeno (2000), quien reportó la generación de nitrato, nitrito y peróxido de hidrógeno cuando se aplicó la sonicación en un medio acuoso.

En un jugo de zanahoria termoultrasonificado se utilizaron temperaturas de 50, 54 y 58 °C por 10 min y amplitud de 120 μm , quienes obtuvieron un pH de 6.82 y 6.80 en la muestra control (Martínez-Flores *et al.*, 2015). Asimismo, este comportamiento se encontró en un jugo de manzana termoultrasonificado (pH de 3.55-3.58) (Abid *et al.*, 2014), por lo que la termoultrasonificación no promovió cambios sobre el pH. Sin embargo, en un jugo de zarzamora expuesto a termoultrasonificación se obtuvieron valores de pH de 2.69-3.42 (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017), con una diferencia similar a la reportada en este estudio (0.71-0.73).

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas del jugo de betabel

Tratamiento (%amplitud/min)	pH	SST (°Brix)	AT (% ác. cítrico)	Estabilidad (%)	Viscosidad (cps)	Turbidez (A_{660})	Oscurecimiento (A_{420})
Control	6.61±0.08	14±0.00	0.09±0.00	92.41±1.95	4.20±0.28	1.17±0.03	1.62±0.02
80%/14min	6.37±0.01	8±0.58	0.06±0.00	98.64±0.11	4.63±2.06	1.73±0.00	0.53±0.01
73%/10min	6.50±0.04	9±0.00	0.06±0.00	98.28±0.14	3.70±0.79	1.87±0.03	0.58±0.01
85%/13min	7.08±0.02	6±0.00	0.06±0.00	98.53±0.20	3.57±0.15	1.46±0.01	0.56±0.01
85%/8min	6.47±0.02	8±0.00	0.07±0.00	98.40±0.66	3.47±0.06	1.31±0.07	0.78±0.01
80%/10min	6.46±0.01	8±0.00	0.06±0.00	98.14±0.18	3.47±0.12	1.49±0.09	0.75±0.03
80%/10min	6.43±0.03	8±0.00	0.06±0.00	97.56±0.11	3.43±0.06	1.39±0.12	0.67±0.01
80%/10min	6.47±0.01	7±0.00	0.07±0.00	97.53±0.14	3.60±0.35	1.39±0.04	0.57±0.01
75%/13min	6.42±0.02	8±0.00	0.07±0.00	97.83±0.46	3.77±0.15	1.83±0.01	0.62±0.01
80%/10min	6.43±0.01	8±0.00	0.07±0.01	97.72±0.45	3.60±0.00	1.48±0.05	0.81±0.02
87%/10min	6.40±0.01	8±0.00	0.07±0.00	97.66±0.64	3.57±0.06	1.59±0.03	0.72±0.04
80%/10min	6.39±0.01	8±0.00	0.07±0.00	96.70±2.55	3.77±0.06	1.39±0.07	0.75±0.02
75%/8min	6.44±0.02	8±0.00	0.07±0.00	97.50±0.74	3.60±0.00	1.43±0.02	0.59±0.01
80%/7min	6.42±0.01	8±0.00	0.07±0.01	98.02±0.19	3.80±0.00	1.30±0.04	0.66±0.02
R^2	0.48	0.57	0.43	0.45	0.11	0.91	0.66

± desviación estándar

3.2.2 Sólidos solubles totales (SST)

Los SST oscilaron de 6-9°Brix para los tratamientos, apreciando una disminución con respecto al control (14°Brix), siendo mayores los valores en la condición 85%/13 min, esto indica que la disminución de este parámetro se detectó cuando las muestras se trataron con más amplitud y tiempo de aplicación de termoultrasonido. Se ha demostrado que la fracción de azúcares solubles en betabel fresco está representada casi exclusivamente por sacarosa (91.6%) (Rodríguez-Sevilla, Villanueva-Suárez & Redondo-Cuenca, 1999), este compuesto se hidroliza si hay un incremento de temperatura cuando se llevan a cabo tratamientos con calor (Ibarz, Pagán & Garza, 1999). La disminución en los resultados, pudo haber sucedido en las muestras termoultrasonificadas debido a la temperatura alcanzada de hasta 5,000 °C y presión de hasta 500 MPa a microescala, generado por el colapso de las burbujas (Suslick, 1988).

En un estudio realizado por Bhat (2011), en donde estudiaron un jugo de lima, obtuvieron una ligera disminución de 0.20 °Brix en comparación con su muestra control (6.60 °Brix). Por otro lado, se han reportado que por acción del termoultrasonido no se presenta un efecto en los valores de los azúcares que componen los jugos, como se ha demostrado en un jugo de manzana termoultrasonificado (12 °Brix) (Abid, Hua, Wua, Khan, 2014), también en jugo de tuna púrpura, no se encontraron cambios (11.91-12.80 °Brix) (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). Esto indica que el comportamiento del contenido de sólidos solubles y los compuestos que lo conforman, depende mucho de cada matriz.

3.2.3 Acidez titulable (AT)

En cuanto a la AT, las muestras tratadas tuvieron valores similares (0.06 a 0.07% ác. cítrico) comparado con el jugo fresco (0.09% ácido cítrico). Comportamientos parecidos como en jugo de zanahoria termoultrasonificado donde no se encontraron cambios significativos en muestras tratadas a 70% de amplitud y 20, 40 y 60 °C por 10 min con valores de 0.11% ácido cítrico (Jabbar *et al.*, 2015), así como en jugo de manzana termoultrasonificado tratado a temperaturas de 20, 30 y 60 °C por 5 y 10

minutos, con una amplitud del 70%, arrojando resultados de 0.22-0.23 % ácido cítrico (Abid, Hua, Wua & Khan, 2014).

3.2.4 Índice de estabilidad

La estabilidad del jugo control mostró los menores valores (92.41%) con respecto a todas las muestras termoultrasonificadas, quienes presentaron un porcentaje de estabilidad de entre 96 y 98%. En jugos tratados por ultrasonido en tuna verde, tuna púrpura y de durazno, también obtuvieron un incremento en su estabilidad (83.0, 70.99-79.39 y 100%, respectivamente) en relación al control (77.96, 62.52 y 80%, respectivamente) (Cansino *et al.*, 2013; Rojas *et al.*, 2016; Zafra-Rojas *et al.*, 2013). El aumento en la estabilidad de los jugos es debido a que al aplicar el ultrasonido, se reduce el tamaño de partícula ocasionado por el colapso de burbujas, permitiendo que las partículas permanezcan en suspensión (Mason, Paniwnyk & Lorimer, 1996), lo que proporciona una mejor estabilidad de las partículas suspendidas en el medio.

3.2.5 Viscosidad

En cuanto a la viscosidad, se obtuvo entre los tratamientos una media de 3.61 cps, reflejando una disminución en contraste al jugo fresco (4.20 cps), excepto por el termoultrasonificado a 80% por 14 min, en la cual aumentó la viscosidad (4.63 cps), este mismo comportamiento se observó en un jugo de tomate termoultrasonificado cuando se aplicó en condiciones de 25, 50 y 75% por 60, 65 y 70 °C, respectivamente, obteniendo mayores valores en el tratamiento por 20 min (20.9 cps) (Wu *et al.*, 2018). En jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, se produjo una reducción significativa de la viscosidad en los jugos tratados a amplitudes de 80% por 15 min y 80% por 25 min (6.72 y 6.83 cps, respectivamente), siendo más bajos que el control y un pasteurizado (38.58 y 35.35 cps, respectivamente) (Cruz-Cansino *et al.*, 2015).

Estos diferentes resultados, son debido a que el ultrasonido puede tanto aumentar como disminuir la viscosidad, ya que depende de la intensidad de aplicación, y el efecto puede ser temporal o permanente (Seshadri, Weiss & Hulbert, 2003).

Los resultados sobre el aumento en la viscosidad de la muestra a 80%/14 min, puede atribuirse a un aumento en la solubilización de pectina en las paredes celulares (Chen, Zhao, Yang & Sha Zhang, 2012), por la combinación de energía acústica y térmica, que mejora la eficiencia de la extracción de la pectina por la interrupción de las estructuras celulares (Jovanović *et al.*, 2017), así como también a la disminución en el tamaño de las partículas (Leighton, 1998), lo cual podría estar relacionado al resultado obtenido en la estabilidad de este tratamiento ya que obtuvo los mayores resultados (98.64%) en relación al resto de las muestras.

3.2.6 Índice de turbidez y oscurecimiento

En los valores obtenidos de turbidez se encontraron rangos de 1.30-1.87 (Tabla 4), siendo la muestra control la que obtuvo los menores valores con 1.17. En este trabajo, esta variable de respuesta obtuvo una R^2 de 0.91, lo que indica que se ajustó al modelo matemático. El coeficiente de regresión se muestra en la tabla 5, la turbidez se vio influenciada significativamente ($p < 0.001$) por el tiempo en su término lineal (b_2), donde se observa en la figura 6, que a mayor tiempo de tratamiento, los valores de turbidez aumentan. En un estudio de jugo de tuna combinado, aplicaron tiempo y amplitud y este parámetro fue también afectado por el tiempo de sonicación ($p < 0.001$), reportando que conforme se incrementa este tiempo, aumenta los valores de turbidez (Cruz-Cansino, 2016). Resultados contrarios fueron informados por Tiwari *et al.* (2008), donde el índice de turbidez influyó de manera significativa ($p < 0.0001$) en amplitud y tiempo, ambos en su término lineal y cuadrático, respectivamente, indicando que el aumento de la amplitud y el tiempo provocaban una disminución. Cervantes *et al.* (2015), reportaron en el jugo de zarzamora termoultrasonificado, que la temperatura influyó significativamente en su término cuadrático ($p < 0.0001$) encontrando que independientemente del tiempo de sonicación, la turbidez cambia a medida que aumenta la temperatura.

Tabla 5. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para la variable de respuesta de turbidez del jugo de betabel termoultrasonicado

Coeficiente	Índice de turbidez
b_0 (intercepto)	1.43 ^a
b_1 (amplitud)	-0.11 ^c
b_2 (tiempo)	0.14 ^b
b_{12} (amplitud*tiempo)	-0.06 ^d
b_{11} (amplitud*amplitud)	0.12 ^c
b_{22} (tiempo*tiempo)	0.01 ^d

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$

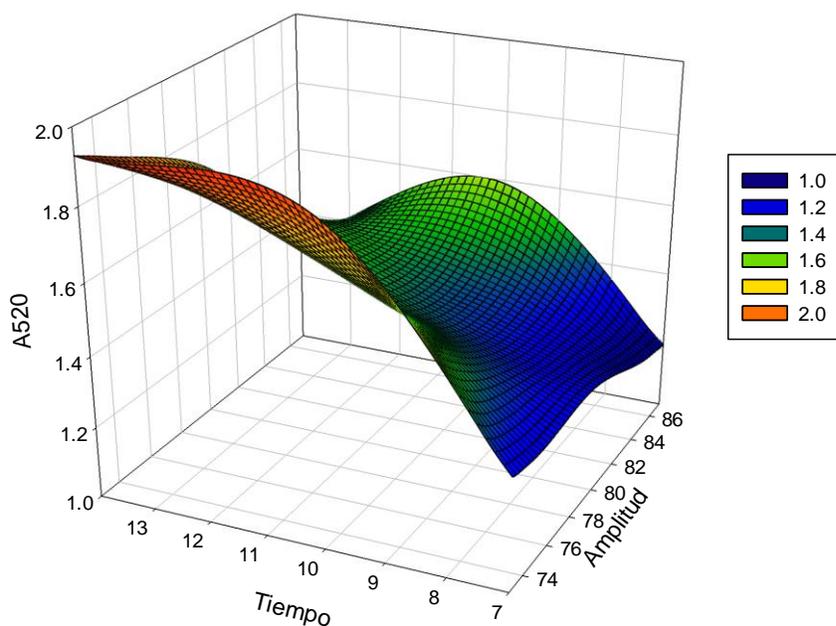


Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre el índice de turbidez en el jugo de betabel. Diferentes colores indican diferentes A_{520}

En cuanto al índice de oscurecimiento, los resultados de las absorbancias obtenidas fueron mayores en el jugo fresco (1.62), que en las muestras termoultrasonificadas (0.56-0.78). En dos muestras de jugo de naranja, uno con pulpa y otro con cáscara de zanahoria termoultrasonificadas, ambos a tiempos de 5, 7.5 y 10 min, temperaturas de 40, 50 y 60 °C y amplitud del 100%, el jugo de naranja con pulpa de zanahoria, obtuvo valores de oscurecimiento de 0.290-0.363 y el jugo de naranja con cáscara de zanahoria de 0.245-0.332, ambos tuvieron valores similares con respecto a la muestra control (0.306 y 0.321, respectivamente) (Adiamo *et al.*, 2017). Mientras que en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, los valores después del tratamiento en condiciones de 80% de amplitud a 15 y 25 min, fueron de 0.37 y 0.42, respectivamente, siendo mayores en relación al control (0.34) (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). La sonicación que promueve la descomposición de los pigmentos y partículas, así como la condensación de grupos carbonilo con aminoácidos y la caramelización, pueden contribuir a los cambios en el índice de oscurecimiento (Valdramidis *et al.*, 2010). Además, las fuerzas de cavitación por ultrasonido pueden cambiar el color de los alimentos por la aparición y aceleración de reacciones físicas, químicas o biológicas y el aumento de las tasas de difusión y dispersión (Sala, Burgos, Condon, Lopez, & Raso, 1995).

3.3 Color

La tabla 6 indica los resultados de la determinación de color (L^* , a^* , b^* , C y h°). Se observa que en el jugo fresco se obtuvieron mayores valores en todos los parámetros, ya que al aplicar el termoultrasonido hay una reducción, a excepción de Hue.

En el parámetro de L^* , los tratamientos termoultrasonificados arrojaron un rango de 4.48-11.10, siendo las muestras tratadas a 75%/8 min y 80%/7min las que tuvieron los menores valores, indicando un color más oscuro, esto debido a una mayor exposición de los pigmentos de color en el jugo por las altas fuerzas de cizallamiento de las burbujas que colapsan provocando este oscurecimiento (Tiwari *et al.*, 2009a).

En las coordenadas a^* y b^* , las muestras presentaron valores de 0.73-3.95 y -1.49-1.31, respectivamente. Los tratamientos a condiciones de 85%/13 min, 85%/8 min,

75%/13 min y 87%/10 min y 4 de los 5 puntos centrales (80%/10 min), se encontraron ubicados en el cuadrante rojo-azul, mientras que el resto de las muestras en el rojo-amarillo (Figura 7). La degradación del color puede deberse a fenómenos físicos extremos que tienen lugar cuando las burbujas colapsan (Suslick, 1988), así como a la afectación de partículas susceptibles como enzimas y microorganismos, el grado de madurez del producto, la presencia de impurezas y las reacciones de oscurecimiento (Sala, Burgos, Condon, Lopez, & Raso, 1995).

En un jugo de manzana termoultrasonificado se hallaron diferentes resultados, con tratamientos de 70% de amplitud a 20, 40 y 60 °C por 30 min, todos los parámetros L*, a* y b* fueron altos con valores de 21.43-23.98, 7.60-8.52 y 0.53-0.73, respectivamente, comparado con su jugo fresco (21.25, 7.87 y 0.33, respectivamente) (Abid *et al.*, 2014).

Para Chroma, los valores disminuyeron en los tratamientos termoultrasonificados (1.44-3.93), en relación al jugo control (11.03). Mientras que los valores de Hue fueron de 5.14 a 359.97 °h ubicándose en los colores rojo/magenta. Similares resultados fueron reportados en un jugo modelo adicionado con polvo de betabel secado por aspersion, en donde arrojaron resultados de 4 a 358 °h (Kaimainen *et al.*, 2015).

3.4 Actividad enzimática

3.4.1 Pectinmetilesterasa (PME)

En un estudio se han reportado valores de la enzima pectinmetilesterasa en jugo fresco de betabel de hasta 0.09 UPME/mL (Marszalek *et al.*, 2017). En el presente trabajo en el jugo fresco se obtuvo un valor muy bajo (6.69×10^{-7} UPME/mL). Esta cantidad es inapreciable si se compara con el jugo de tomate, el cual contiene 43 UPME/mL (De Sio *et al.*, 1995). Al aplicar el termoultrasonido, solo se detectó en los tratamientos a 73%/10 min (4.16×10^{-7} UPME/mL) y 75%/8 min (3.77×10^{-7} UPME/mL), mostrando una actividad residual de 62.24% y 56.46%, respectivamente, comparado con la muestra control (100%). En un jugo de zarzamora termoultrasonificado a 50 °C por 25 min y 80% de amplitud, informaron valores de 53.5% de actividad residual (Cervantes *et al.*, 2017). En otro estudio, se obtuvieron rangos de actividad residual entre 45.8-49.3% en un jugo combinado de tuna termoultrasonificado a una temperatura de 38-52 °C, en tiempos de 13-27 min y amplitud al 80% (Cruz-Cansino *et al.*, 2016). La total inactivación de la enzima PME en los demás tratamientos en el jugo de betabel, es debido al gradiente de altas presiones generadas durante el tratamiento, lo que causa fragmentación de las moléculas de proteína, mientras que la temperatura generada provoca inactivación por pirolisis y desnaturalización proteica (Morel *et al.*, 2000; Tiwari *et al.*, 2009a).

3.4.2 Polifenoloxidasasa (PPO)

Con respecto a los resultados obtenidos de PPO, en el jugo de betabel el valor fue muy pequeño ya que el control tuvo los mayores valores de 1.06 UAE/mL, el cual representa el 100% de actividad residual, esto comparado con otras matrices como en el jugo de melón (240.95 UAE/mL) (Fonteles *et al.*, 2012). Este valor se asemeja a lo encontrado en jugo fresco de betabel con 1.44 UAE/mL (Marszalek *et al.*, 2017). Los tratamientos arrojaron valores de 0.56-0.92 UAE/mL (47.49-73.04% de actividad residual) (Tabla 7). En un jugo de manzana termoultrasonificado, se trató a 20, 40 y 60 °C, por 5 y 10 min cada lote y con amplitud del 70%, arrojaron rangos de 6.15-98.16%

(Abid *et al.*, 2014). La inactivación enzimática se debe al efecto mecánico y químico ocasionado por el ultrasonido (Raviyan, Zhang & Feng, 2005). En el efecto mecánico, cuando una onda de ultrasonido de alta potencia se propaga en un líquido, se generan burbujas de cavitación debido a un rápido cambio en la presión (Sala *et al.*, 1995). Estas microburbujas colapsan violentamente en los ciclos de compresión subsiguientes de una onda sónica propagada, y su colapso produce temperatura y presión localizada muy alta (Sala *et al.*, 1995), resultando de esto, el efecto químico que modifica las estructuras secundarias y terciarias de la enzima que se alteran, ocasionando una pérdida en su actividad biológica (Tian *et al.*, 2004). Aunado a lo anterior, se conduce a la sonólisis de las moléculas de agua, originando radicales libres, que reaccionan con los residuos de aminoácidos de todas las proteínas presentes en la muestra, lo que provoca una incapacidad de participar en la estabilización de la enzima, la unión al sustrato o la función catalítica que conduce a la inactivación de la enzima (Barteri *et al.*, 2004).

Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre la actividad enzimática de polifenoloxidasas del jugo de betabel

Tratamiento (%amplitud/min)	PPO (%)
Control	100±0.00
80%/14min	58.41±2.30
73%/10min	47.49±0.87
85%/13min	51.10±4.02
85%/8min	57.24±3.87
80%/10min	62.29±2.31
80%/10min	63.92±1.18
80%/10min	52.63±1.22
75%/13min	59.95±0.68
80%/10min	63.02±2.98
87%/10min	72.95±2.74
80%/10min	73.04±2.90
75%/8min	63.74±0.41
80%/7min	72.68±2.63

± desviación estándar

3.5 Contenido de betalaínas

En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos sobre el contenido de betaninas y betaxantinas en el jugo de betabel termoultrasonificado, obteniendo una R^2 de 0.92 y 0.96, respectivamente. Se observa un aumento en el contenido de betaninas con respecto al jugo control (104.44 mg EB/100 mL), encontrando un rango de 128.31-145.43 mg EB/100 mL en los tratamientos. De acuerdo al coeficiente de regresión (Tabla 9), se observa que el tiempo en su término cuadrático (b_{22}) influyó a una $p < 0.001$, esto indica que a mayor tiempo de termoultrasonido, se incrementan estos compuestos, también se aprecia que la amplitud en su término lineal influyó a una $p < 0.05$, como se muestra en la figura 8. Los resultados son parecidos a lo reportado por Maran & Manikandan (2012), sobre la extracción de pigmentos en tuna, donde la temperatura y el tiempo de extracción en sus términos lineal y cuadrático afectaron significativamente ($p < 0.0001$), lo que arroja un aumento de este pigmento.

Tabla 8. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre el contenido y actividad antioxidante del jugo de betabel

Tratamiento (%amplitud/min)	Betaninas (mg EB/100 mL)	Betaxantinas (mg EB/100 mL)	CFT* (mg EAG/100 mL)	AA** (mg EAA/100 mL)	ABTS (μ mol ET/100 mL)	DPPH (μ mol ET/100 mL)	FRAP (μ mol Fe(II)/100 mL)	AQ*** (%)
Control	104.44 \pm 1.4	140.52 \pm 0.9	157.26 \pm 3.8	559.23 \pm 3.8	138.73 \pm 0.5	594.02 \pm 3.47	22.50 \pm 0.1	84.55 \pm 0.33
80%/14min	136.82 \pm 8.1	73.48 \pm 1.1	89.63 \pm 1.3	525.25 \pm 1.7	259.59 \pm 11.3	374.3 \pm 20.0	16.54 \pm 0.1	42.24 \pm 0.7
73%/10min	132.47 \pm 12.1	73.70 \pm 4.8	98.68 \pm 0.6	442.93 \pm 11.5	244.15 \pm 7.3	294.8 \pm 32.6	15.17 \pm 0.1	49.77 \pm 2.0
85%/13min	134.70 \pm 2.4	73.42 \pm 0.3	89.70 \pm 2.1	484.34 \pm 7.0	308.78 \pm 3.2	313.3 \pm 56.4	18.08 \pm 0.2	25.31 \pm 1.1
85%/8min	145.43 \pm 1.9	72.36 \pm 1.1	108.88 \pm 1.9	488.13 \pm 3.5	262.03 \pm 11.3	274.3 \pm 31.4	17.98 \pm 1.0	52.14 \pm 2.1
80%/10min	131.02 \pm 6.5	69.92 \pm 9.4	104.73 \pm 2.0	508.33 \pm 8.0	250.65 \pm 67.6	343.8 \pm 52.7	15.86 \pm 0.8	45.65 \pm 2.3
80%/10min	132.86 \pm 16.6	69.18 \pm 10.1	103.37 \pm 2.0	528.79 \pm 4.5	219.76 \pm 6.5	344.3 \pm 39.1	15.99 \pm 0.1	40.97 \pm 3.8
80%/10min	128.31 \pm 1.2	68.57 \pm 0.5	100.99 \pm 2.2	536.87 \pm 20.2	231.95 \pm 18.2	344.3 \pm 84.0	14.55 \pm 0.1	45.31 \pm 0.9
75%/13min	137.02 \pm 13.0	73.97 \pm 5.1	97.32 \pm 0.3	477.02 \pm 31.9	215.69 \pm 1.9	304.3 \pm 75.8	14.24 \pm 0.2	49.60 \pm 0.5
80%/10min	131.99 \pm 4.6	69.72 \pm 1.8	101.27 \pm 0.4	455.05 \pm 19.2	236.02 \pm 33.9	341.4 \pm 57.1	16.27 \pm 0.3	44.77 \pm 2.0
87%/10min	135.86 \pm 9.5	72.54 \pm 1.5	103.51 \pm 1.3	441.67 \pm 9.1	301.46 \pm 34.9	270.0 \pm 105.2	17.87 \pm 0.3	41.77 \pm 0.5
80%/10min	133.73 \pm 21.1	69.75 \pm 8.9	107.05 \pm 5.6	505.81 \pm 4.6	253.09 \pm 7.0	347.6 \pm 80.2	18.91 \pm 0.1	46.87 \pm 1.3
75%/8min	135.47 \pm 14.1	75.74 \pm 5.8	99.84 \pm 2.3	525.76 \pm 36.4	267.32 \pm 6.8	258.6 \pm 63.4	18.07 \pm 0.5	45.03 \pm 2.2
80%/7min	143.11 \pm 6.0	73.98 \pm 1.0	103.85 \pm 1.0	540.15 \pm 12.1	257.56 \pm 6.3	245.2 \pm 48.5	18.53 \pm 1.1	52.26 \pm 3.5
R²	0.92	0.96	0.93	0.70	0.91	0.91	0.90	0.90

\pm desviación estándar

* CFT: Compuestos fenólicos totales

** AA: Ácido ascórbico

*** AQ: Actividad quelante

Tabla 9. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para la variable de respuesta de betaninas del jugo de betabel termoultrasonificado

Coeficiente	Betaninas	Betaxantinas	CFT*
b_0 (intercepto)	131.57 ^a	69.42 ^a	103.48 ^a
b_1 (amplitud)	1.55 ^d	-0.69 ^d	1.03
b_2 (tiempo)	-2.25 ^c	-0.17	-5.22 ^b
b_{12} (amplitud*tiempo)	-3.07 ^c	0.71 ^d	-4.16 ^c
b_{11} (amplitud*amplitud)	1.56 ^d	1.95 ^a	-1.19
b_{22} (tiempo*tiempo)	4.46 ^b	2.26 ^a	-3.36 ^c

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$
 * CFT: Compuestos fenólicos totales

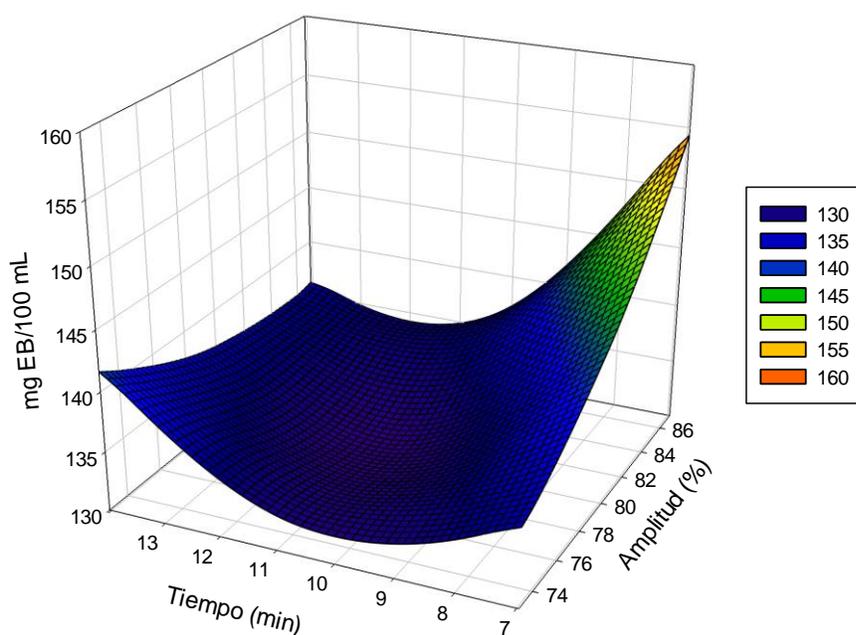


Figura 8. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de betaninas en el jugo de betabel. Diferentes colores indican diferentes valores de mg EB/100 mL

Un comportamiento diferente se presentó en las betaxantinas, con una disminución en los tratamientos (68.57-75.74 mg EB/100 mL) en relación al control (140.52 mg EB/100 mL). Tanto el tiempo (b_{22}) y la amplitud (b_{11}) en sus términos cuadráticos, influyeron significativamente ($p < 0.0001$) (Tabla 9), lo que representa por un lado, que al aumentar el tiempo, y por otro lado a mayor amplitud, incrementa el contenido de betaxantinas como se aprecia en la figura 9. Similares resultados fueron reportados en un estudio sobre la extracción de pigmentos en tuna en donde la temperatura y tiempo de extracción fueron positivos ($p < 0.0001$), mientras que su efecto cuadrático fue negativo a $p < 0.05$, que resultó en un aumento curvilíneo en los valores de betaxantinas, lo que refleja que al aumentar la temperatura y el tiempo, el contenido total de betaxantinas aumentó (Maran & Manikandan, 2012).

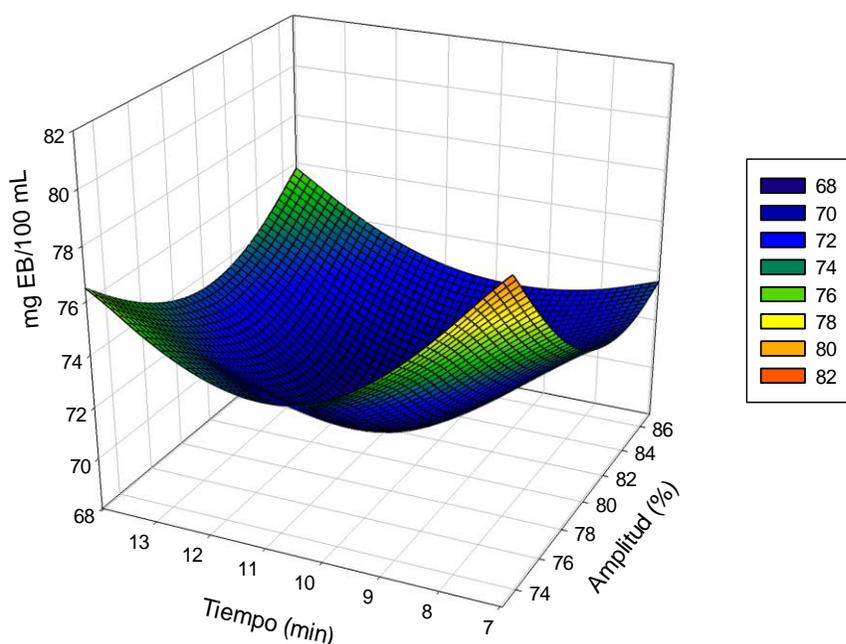


Figura 9. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de betaxantinas en el jugo de betabel. Diferentes colores indican diferentes valores de mg EB/100 mL

3.6 Contenido de fenoles

El contenido de compuestos fenólicos totales en las muestras tratadas arrojaron valores de 89.63-108.88 mg EAG/100 mL, siendo menores en comparación con el jugo fresco, el cual obtuvo un aumento en su cantidad (157.26 mg EAG/100 mL). De acuerdo al coeficiente de regresión presentado en la tabla 9, hay una influencia significativa de $p < 0.001$ en el término lineal de tiempo, reflejando una disminución en los compuestos fenólicos al incrementar el tiempo de termoultrasonido, como se indica en la figura 10. Un comportamiento diferente fue observado en un jugo combinado de tuna, donde el término lineal y los cuadráticos de tiempo y temperatura afectaron significativamente ($p < 0.05$, $p < 0.01$ y $p < 0.001$, respectivamente), indicando que hay un incremento en los valores cuando estas variables se aumentan (Cruz-Cansino *et al.*, 2016).

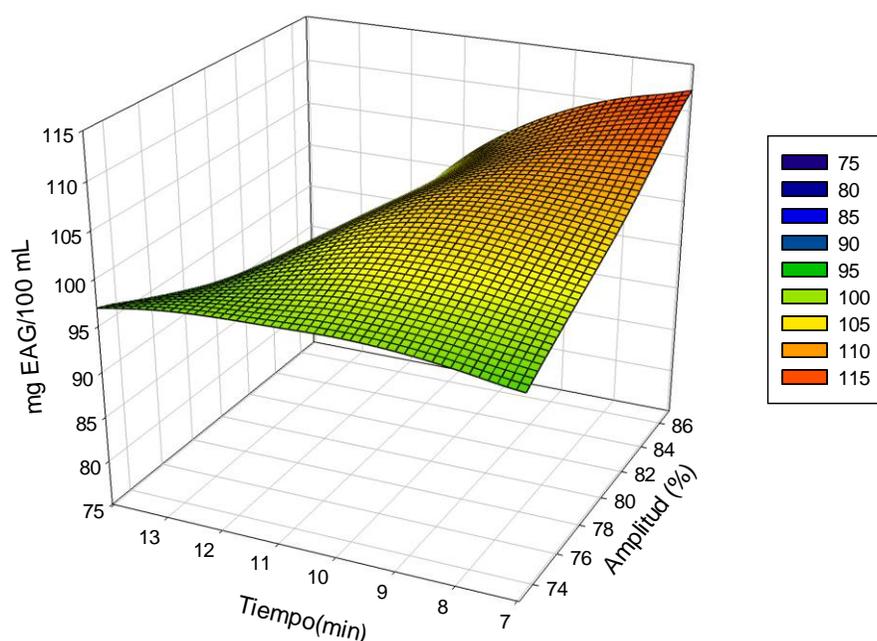


Figura 10. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos totales del jugo de betabel. Diferentes valores indican diferentes mg EAG/100 mL

3.7 Ácido ascórbico

En la tabla 8 se aprecian los promedios obtenidos de la determinación de ácido ascórbico. Los valores oscilaron entre 441.67-540.15 mg EAA/100 mL, observando una reducción máxima de 117.56 mg EAA/100 mL con respecto al control (559.23 mg EAA/100 mL). Estudios anteriores han indicado que el ultrasonido y termoultrasonido, incrementan el contenido de vitamina C en los jugos de frutas, como el jugo de fresa y el jugo de guayaba ultrasonificados y en el jugo de lima kasturi termoultrasonificado (Bhat *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2007; Tiwari *et al.*, 2009a). Sin embargo, otros autores han encontrado una disminución de este compuesto al aplicar ultrasonido, manifestando que se atribuye a la inestabilidad que presenta este compuesto (Abid *et al.*, 2014; Odriozola-Serrano, Soliva-Fortuny, & Martín-Belloso, 2009; Tiwari *et al.*, 2009b) y al fenómeno de cavitación, en donde se generan radicales libres, produciendo reacciones de oxidación, las cuales afectan al ácido ascórbico (Abid *et al.*, 2014; Dubrović *et al.*, 2011; Rawson *et al.*, 2011; Tiwari *et al.*, 2009c).

3.8 Actividad antioxidante y actividad quelante

3.8.1 Actividad antioxidante por el método ABTS

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante esta técnica, se tuvo un incremento en los valores de los jugos termoultrasonificados con referencia al jugo fresco (138.73 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$), la muestra tratada a 85% de amplitud y máximo tiempo de termoultrasonido (13 min) presentó el valor más alto (308.78 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$). Observando la tabla 10, se aprecia que la amplitud en su término lineal afectó significativamente ($p < 0.001$) la actividad antioxidante por ABTS, esto se indica en la figura 11, en donde a mayor tratamiento de amplitud, hay un incremento en la actividad antioxidante. Se ha reportado en aguamiel de maguey manso termoultrasonificado, que la temperatura, así como el tiempo en su término lineal, influyeron de manera significativa ($p < 0.0001$), indicando que hay un incremento de actividad antioxidante, cuando se aplica más temperatura y menor tiempo de termoultrasonido (López, 2018).

Tabla 10. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de actividad antioxidante y actividad quelante del jugo de betabel termoultrasonicado

Coeficiente	ABTS	DPPH	FRAP	AQ*
b_0 (intercepto)	238.29 ^a	344.28 ^a	15.83 ^a	44.71 ^a
b_1 (amplitud)	21.10 ^b	-1.29	0.94 ^c	-3.56 ^c
b_2 (tiempo)	-0.25 ^d	33.40 ^b	-0.81 ^c	-4.55 ^c
b_{12} (amplitud*tiempo)	24.6 ^c	-1.67	0.98 ^d	-7.85 ^b
b_{11} (amplitud*amplitud)	16.69 ^c	-33.05 ^c	0.36 ^d	-0.34 ^d
b_{22} (tiempo*tiempo)	9.58 ^d	-19.37 ^d	0.86 ^c	0.40 ^d

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$

* AQ: Actividad Quelante

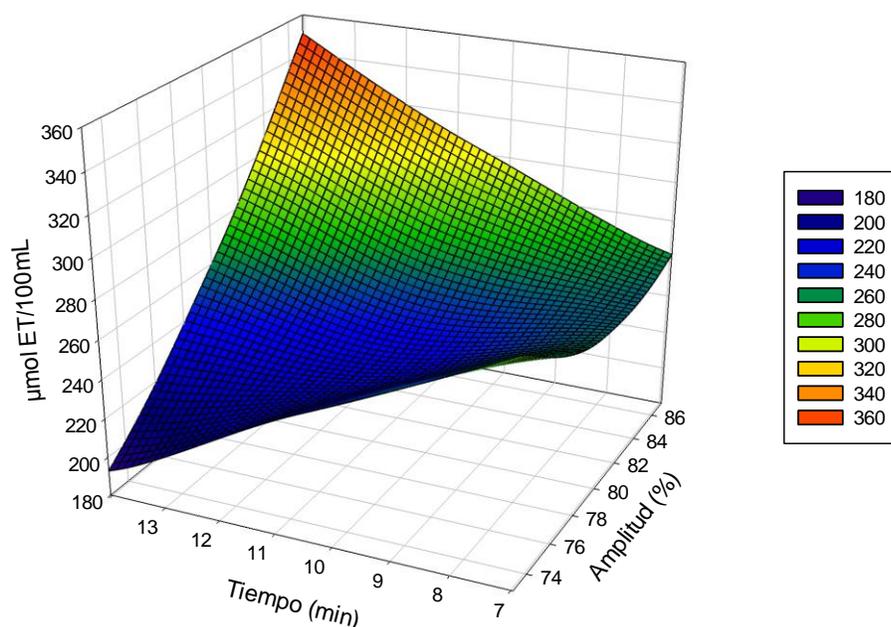


Figura 11. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método ABTS. Diferentes valores indican diferentes $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$

3.8.2 Actividad antioxidante por el método DPPH

En cuanto a la actividad antioxidante por DPPH, hubo una disminución de los tratamientos por termoultrasonido (245.2-374.3 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$) con respecto a la muestra control (594.02 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$). Se vio una influencia significativa de $p < 0.05$ en el término cuadrático de tiempo, reflejando una disminución en los valores al aumentar tiempo de termoultrasonido (Figura 12). Un efecto diferente fue reportado en un jugo combinado de tuna verde y tuna púrpura, en donde la temperatura y el tiempo en su término lineal, afectaron significativamente ($p < 0.05$) la actividad de eliminación de radicales libres (Cruz-Cansino *et al.*, 2016).

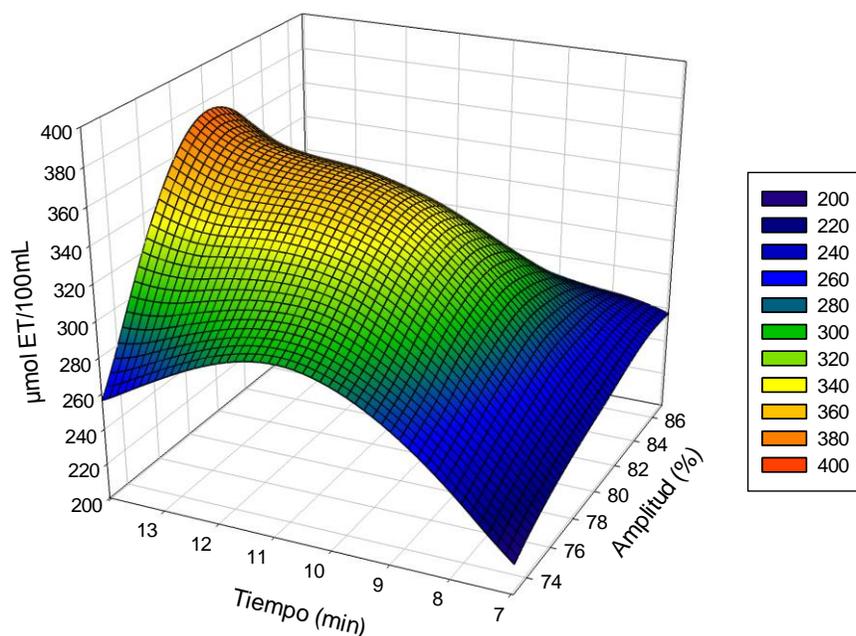


Figura 12. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método DPPH. Diferentes valores indican diferentes $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$

3.8.3 Actividad antioxidante por el método FRAP

Para FRAP, se observó una reducción en las muestras termoultrasonicadas de hasta 8.26 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$ en relación al jugo fresco (25.5 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$). En

cuanto al coeficiente de regresión, la amplitud y el tiempo en su término lineal, así como el tiempo en su término cuadrático, tuvieron un impacto significativo ($p < 0.01$), en la figura 13 se aprecia que conforme se aplica mayor amplitud y tiempo, hay un aumento de actividad antioxidante por FRAP. En un estudio con cáscara de granada para la extracción de compuestos bioactivos por medio del ultrasonido, la interacción de amplitud y tiempo, así como el tiempo en su término cuadrático influyeron significativamente ($p < 0.001$) (Sharayei *et al.*, 2019), similar a lo encontrado en este trabajo.

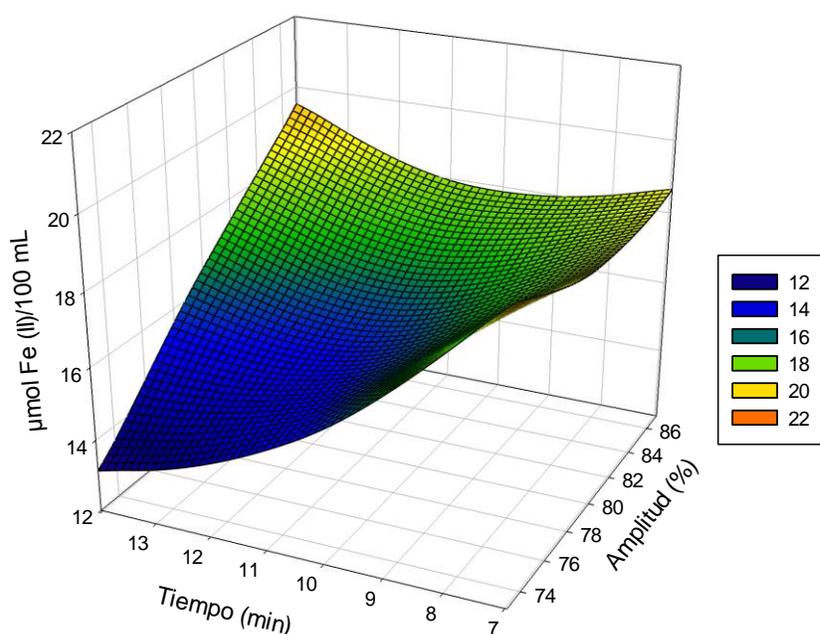


Figura 13. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del jugo de betabel medida por el método FRAP. Diferentes colores indican diferentes $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$

3.8.4 Actividad quelante

En esta determinación la muestra control presentó el valor máximo de actividad quelante (84.55%) con respecto a los jugos termoultrasonificados (25.31-52.26%) (Tabla 10) obteniendo una R^2 de 0.90. Para el coeficiente de regresión, la interacción de amplitud y tiempo tuvo un efecto significativo a una $p < 0.001$, esto se representa en

la figura 14, donde a mayor amplitud y tiempo se generó una disminución de los valores. Reportes en un jugo de zarzamora termoultrasonicado, indicaron que la temperatura en su forma lineal y el tiempo en su término cuadrático influyeron significativamente ($p < 0.0001$), la temperatura tuvo un efecto positivo en la actividad, mientras que el tiempo ejerció el efecto contrario (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017).

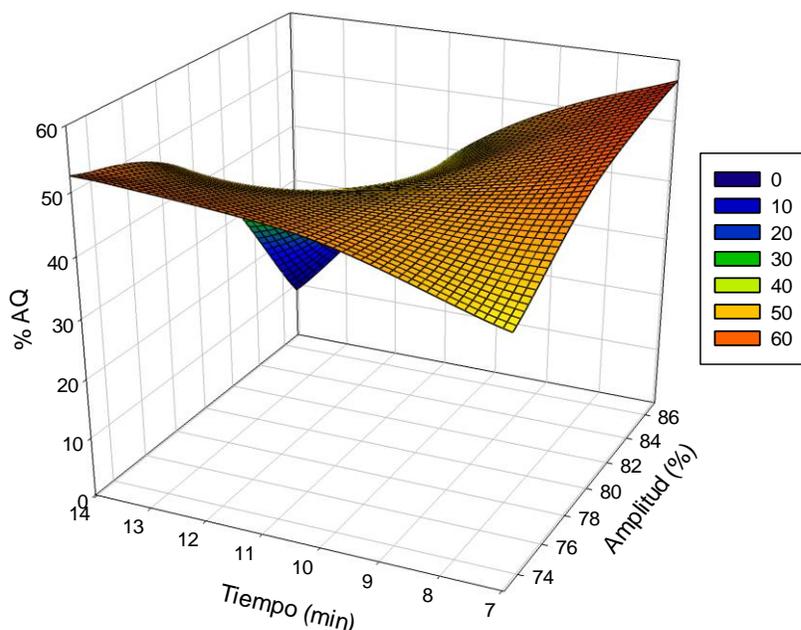


Figura 14. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad quelante del jugo de betabel. Diferentes colores indican diferente % AQ

3.9 Optimización del proceso de termoultrasonido del jugo de betabel

Los parámetros que se ajustaron al modelo matemático fueron índice de turbidez (2.07), betaninas (206.44 mg EB/100 mL), betaxantinas (126.07 mg EB/100 mL), compuestos fenólicos totales (171.68 mg EAG/100 mL), ABTS (130.74 $\mu\text{mol ET}/100$ mL), DPPH (344.28 $\mu\text{mol ET}/100$ mL), FRAP (23.37 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL) y actividad quelante (77.22%), y los valores obtenidos del predicho a partir del programa JMP, se utilizaron para elaborar figuras de contorno a partir del programa SigmaPlot, las cuales se traslaparon para apreciar la condición óptima de tratamiento de termoultrasonido, la cual fue de 80%/10.5 min (Figura 15).

A pesar de que el ácido ascórbico no se ajustó al modelo matemático, se sabe que los valores que se pudieron obtener en la condición óptima se encuentra dentro de los valores obtenidos anteriormente en la elaboración de los 13 tratamientos (441.67-540.15 mg EAA/100 mL). Esta determinación es importante, ya que el cuerpo requiere vitamina C para las funciones fisiológicas normales, debido a que ayuda en el metabolismo de la tirosina, el ácido fólico y el triptófano, a disminuir la sangre, el colesterol y contribuye a la síntesis de los aminoácidos carnitina y catecolamina. También es necesario para el crecimiento del tejido y la cicatrización de heridas, así como que interviene en la formación de neurotransmisores y aumenta la absorción de hierro en el intestino. Al ser antioxidante, protege al cuerpo de los efectos nocivos de los radicales libres y los contaminantes. La dosis diaria recomendada es de 75 mg/día (FAO, 2002), por lo que consumir 100 mL del jugo termoultrasonicado, cubriría los valores establecidos de ingesta diaria recomendada.

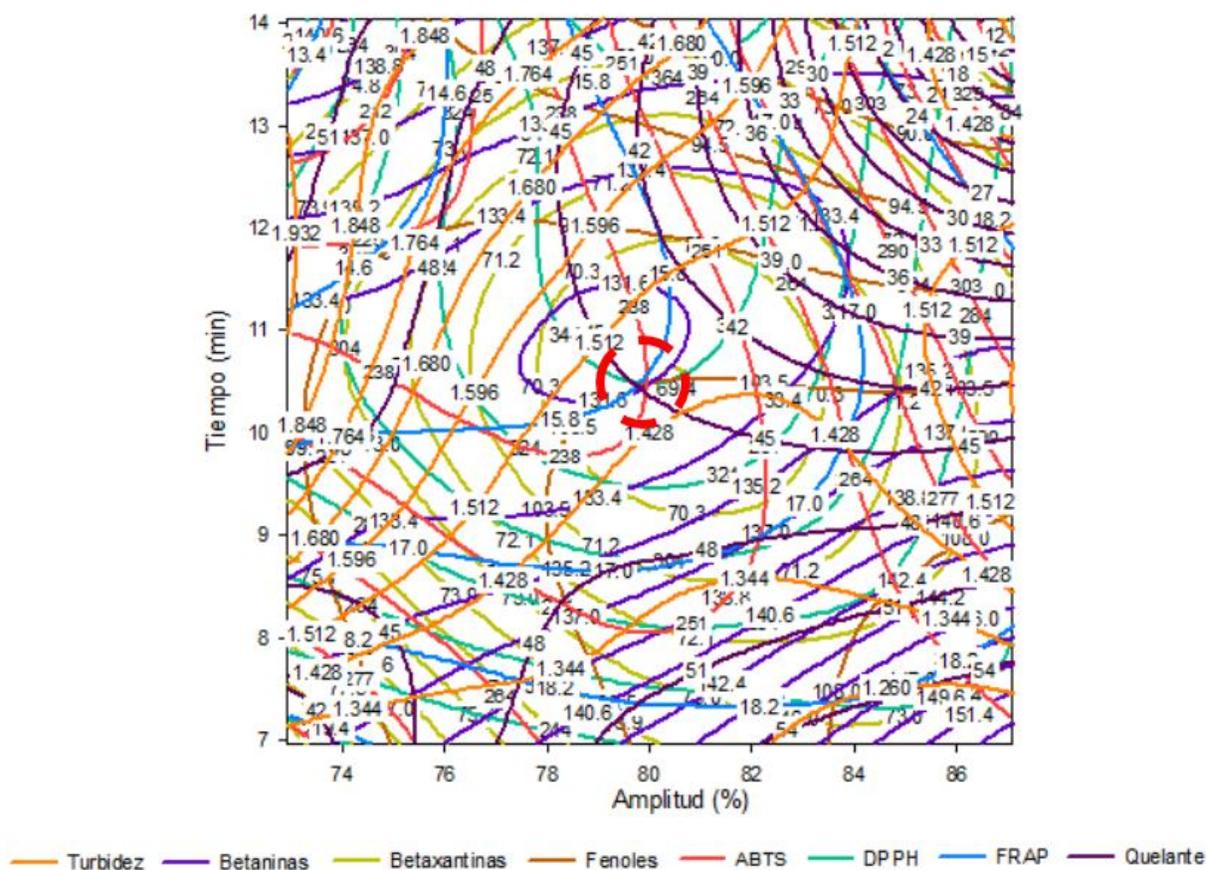


Figura 15. Traslape de figuras de contorno.  Condición óptima de proceso

3.10 Reproducibilidad del estudio

Para comprobar la reproducibilidad del proceso óptimo de termoultrasonido, los valores predichos fueron comparados con la condición óptima, la cual se realizó por triplicado. Se observaron diferencias significativas entre el valor predicho y el experimental en todos los parámetros, en donde la condición óptima mostró mayores valores al valor predicho a excepción de la prueba de ABTS (Tabla 11).

Tabla 11. Valores predichos (RSM) y valores experimentales (condición óptima) de las variables que se ajustaron al modelo matemático

Variables	Valor predicho	Valor experimental
Índice de turbidez	1.428	2.07*
Betaninas	131.576	206.44*
Betaxantinas	69.424	126.07*
CFT^a	103.482	171.68*
ABTS	238.294*	130.74
DPPH	344.28	630.88*
FRAP	15.832	23.37*
Actividad quelante	44.714	77.22*

^aCFT: Compuestos fenólicos totales. * Indica diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$)

3.11 Comparación del jugo optimizado con jugo fresco y pasteurizados

Para la comparación, se realizaron análisis microbiológicos, actividad enzimática y color, ya que son parámetros importantes de inocuidad, calidad en jugos y aceptación sensorial para el consumidor. Y se realizaron los parámetros que se ajustaron al modelo matemático, los cuales fueron: índice de turbidez, contenido de betalaínas y fenoles, actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) y actividad quelante.

3.11.1 Microbiología

La inocuidad es un atributo fundamental de la calidad, por lo que todos tienen derecho a que los alimentos consumidos sean inocuos y no contengan agentes físicos, químicos o biológicos en niveles que pongan en peligro su salud (Garzón, 2009).

En la figura 16 se pueden apreciar los resultados de los efectos del TUS y PAST sobre la carga microbiana, todos los jugos tratados presentaron una disminución de microorganismos tanto para MA como para EB, con respecto al CTRL, a excepción del jugo PAST1 en MA en donde se comportó de manera similar ($p > 0.05$). La muestra termoultrasonificada obtuvo la mayor disminución de MA y EB (0.90 log UFC/mL y 2.04 log UFC/mL, respectivamente), en relación al control, al igual que MA en el PAST2 (0.64 log UFC/mL).

Una disminución en el conteo de microorganismos fue reportada por Cruz-Cansino *et al.* (2015), en jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, en donde obtuvieron reducciones de hasta 1.82 log UFC/mL para mesófilos aerobios y 1.61 log UFC/mL para enterobacterias, con respecto a su jugo control. Existe un estándar de inocuidad de los alimentos mediante una regulación de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, 2001) para los jugos mínimamente procesados, donde se requieren menos de 5.0 unidades logarítmicas de microorganismos patógenos, por lo que se demuestra que todos los tratamientos en esta investigación entraron dentro de este margen permitido.

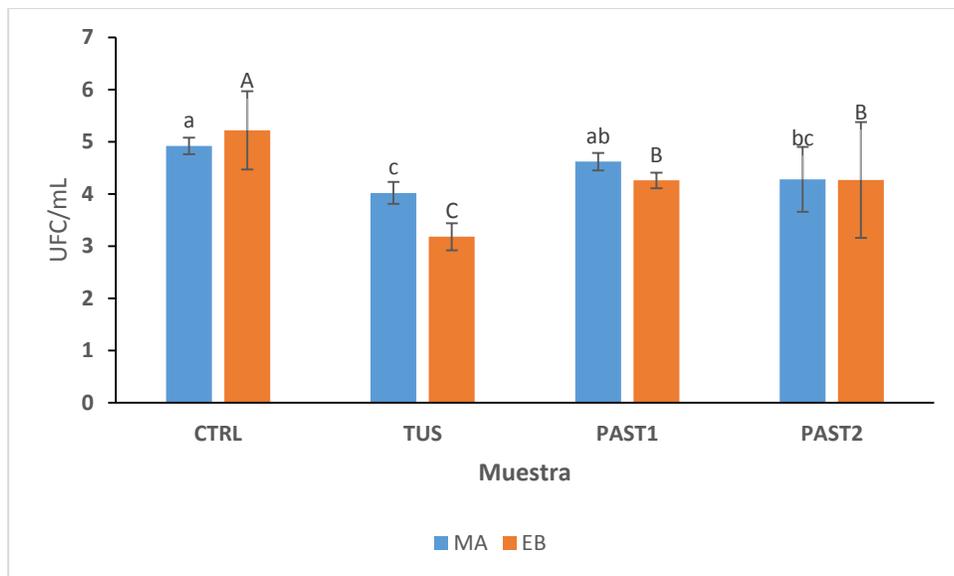


Figura 16. Microbiología en muestras de jugo de betabel. MA: mesófilos aerobios; EB: enterobacterias; CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-c} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-C} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

3.11.2 Actividad enzimática pectinmetilesterasa y polifenoloxidasas

La pectinmetilesterasa provoca precipitados en los jugos y la polifenoloxidasas promueve cambios de color debido al oscurecimiento producido por esta enzima, generando también cambios de sabor, por lo tanto, son problemas de calidad ya que repercute en la aceptación del producto (Abid *et al.*, 2014).

Todos los tratamientos obtuvieron valores inapreciables y en pocos se pudo cuantificar la actividad enzimática, obteniendo valores de 4.41×10^{-07} UPME/mL para termoultrasonido, 5.18×10^{-07} UPME/mL para PAST1 y 4.42×10^{-07} UPME/mL para PAST2, observándose que el pasteurizado a menor temperatura, fue quien arrojó los valores mayores en relación al jugo fresco (6.69×10^{-07} UPME/mL). A pesar de lo anterior, se puede resaltar que el jugo TUS mostró una ligera disminución en comparación a los pasteurizados. Se ha demostrado que la pasteurización en jugo de

naranja inactiva la PME (Chen & Wu, 1998), hasta en un 98% como en el tratado a 94.6 °C durante 30 s (Yeom, Streaker, Zhang & Min, 2000). De acuerdo a Irwe y Olsson (1994), una reducción del 90-100% de la actividad de la PME es normal en el jugo de naranja pasteurizado. Además, se ha comprobado que la PME causa la pérdida de turbidez de jugo de naranja por la desesterificación de la pectina (Kimball, 2012).

Los valores obtenidos de actividad residual de polifenoloxidasa se indican en la figura 17, donde se aprecia que el jugo termoultrasonificado obtuvo los menores valores ($p < 0.05$), lo que representa una mayor inactivación en relación a los jugos pasteurizados, por lo tanto, mejor calidad. Similar comportamiento fue reportado en trabajos realizados sobre puré de frutas y jugo de zarzamora termoultrasonificados, los cuales arrojaron menor actividad residual comparado con un tratamiento de pasteurización, en puré de pera obtuvieron 4.3%, en puré de fresa 14%, mientras que en el jugo de zarzamora 1.72% de actividad residual y en los pasteurizados tuvieron 90, 69, 10.25% de actividad residual, respectivamente (Cervantes-Elizarrarás, 2015; Sulaiman, Soo, Farid & Silva, 2015).

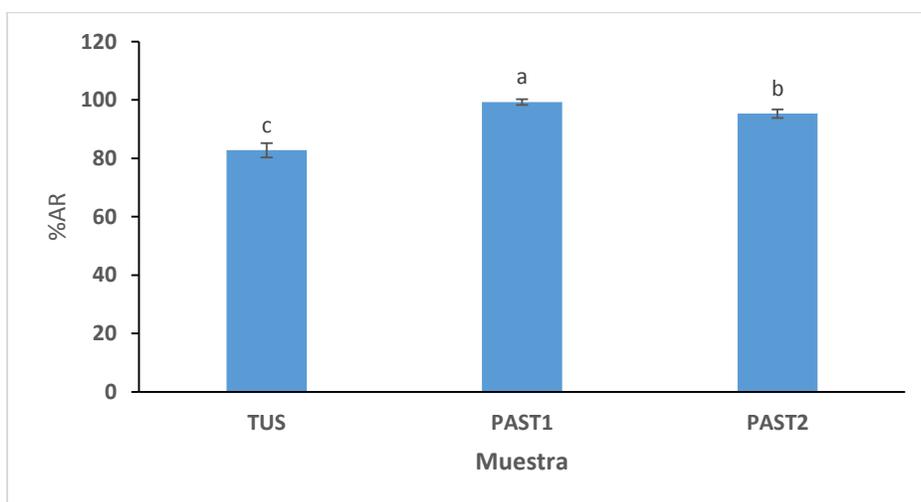


Figura 17. Actividad residual de polifenoloxidasa en muestras de jugo de betabel. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-c} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

3.11.3 Color

El color es el primer atributo que percibimos de los alimentos, por ello se considera el determinante de la aceptabilidad y preferencias del consumidor.

En la tabla 12 se puede apreciar que el jugo PAST1 arrojó los resultados más altos de luminosidad ($p < 0.05$), esto indica que es menos oscuro que los demás jugos. Los valores de a^* (+ rojo – verde) y b^* (+ amarillo – azul), en la muestra TUS y PAST1 fueron similares ($p > 0.05$). Para Chroma, se encontró que el TUS obtuvo los menores valores ($p < 0.05$) con respecto a los demás tratamientos, y los valores de Hue reflejan que TUS y PAST2 obtuvieron valores similares ($p > 0.05$).

Los cambios de color en el jugo termoultrasonificado, son atribuidos a la cavitación durante la sonicación (Tiwari *et al.*, 2008). Los cambios de luminosidad en todos los tratamientos se atribuye a la degradación de las betalaínas (Kathiravan, Nadanasabapathi & Kumar, 2014), así como a la precipitación parcial de partículas suspendidas inestables (Tiwari *et al.*, 2008), esto debido a que las betalaínas son los pigmentos que le proporcionan el color característico al jugo. En general, el tratamiento térmico indujo un cambio de color en los jugos, ya que se observaron valores de ángulo de matiz crecientes tras la exposición térmica, lo que refleja un cambio de color hacia el amarillo (Herbach, Stintzing & Carle, 2004). Estos cambios podrían ser positivos o negativos para el producto, de acuerdo a la percepción del consumidor.

Tabla 12. Parámetros de color en muestras de jugo de betabel. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurizada a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurizada a 80 °C por 10 min

Muestra	L^*	a^*	b^*	C	Hue
CTRL	14.72±0.87 ^c	9.40±0.35 ^b	8.86±0.08 ^a	10.43±0.43 ^a	33.67±3.17 ^c
TUS	17.88±0.48 ^b	3.83±0.06 ^c	7.26±0.07 ^b	8.60±0.70 ^b	61.99±0.25 ^b
PAST1	19.94±1.03 ^a	2.92±0.17 ^c	7.23±0.72 ^b	10.47±0.59 ^a	66.22±0.32 ^a
PAST2	18.15±0.84 ^b	10.95±1.06 ^a	6.44±0.33 ^c	11.13±0.72 ^a	61.52±2.22 ^b

± desviación estándar. ^{a-c} Letras superíndices diferentes indican diferencia estadísticamente significativa entre las muestras $p < 0.05$.

3.11.4 Índice de turbidez

La turbidez como parámetro de calidad de jugos y néctares, está relacionada con la suspensión de partículas compuestas de una mezcla compleja de proteínas, pectina, lípidos, hemicelulosa, celulosa y otros componentes menores (Vaillant, Millan, Dornier, Decloux & Reynes, 2001). En la figura 18 se observa que el jugo TUS obtuvo los mayores valores ($p < 0.05$) de turbidez (2.07) en comparación con el resto de los tratamientos. El aumento en sus valores, como se mencionó anteriormente, se debe a que el tratamiento de ultrasonido rompe las moléculas más grandes en otras más pequeñas, debido al alto gradiente de presión ejercido por la cavitación que finalmente homogeneiza el jugo adecuadamente y la ruptura aumenta el número de partículas suspendidas, disminuyendo la distancia entre las partículas por la ampliación del área de superficie y por lo tanto aumenta la turbidez en el jugo (Rao, 1999). Los jugos son naturalmente turbios, pero en diferentes grados, especialmente debido a la presencia de sus componentes (Vaillant, Millan, Dornier, Decloux & Reynes, 2001), sin embargo, este es otro parámetro en el cual la aceptación del producto depende mucho de los consumidores.

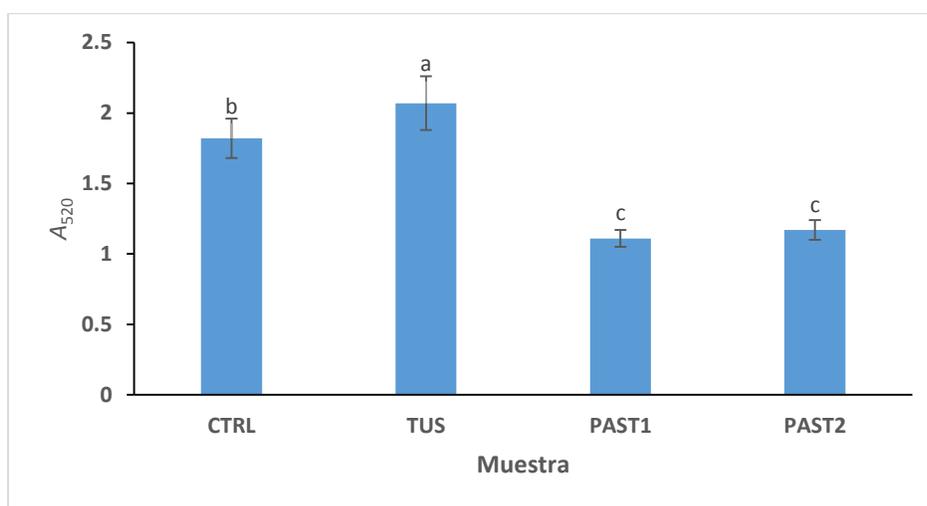


Figura 18. Índice de turbidez en muestras de jugo de betabel. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-c} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

3.11.5. Contenido de betalainas

En la figura 19, se muestran los resultados de contenido de betaninas (Figura 19A) y betaxantinas (Figura 19B) en los jugos de betabel antes y después del análisis de la bioaccesibilidad intestinal *in vitro*. Se puede apreciar que en ambos pigmentos, el jugo CTRL original arrojaron altas concentraciones ($p < 0.05$) (253.37 y 153.38 mg EB/100 mL, respectivamente) con respecto a las demás muestras, sin embargo, hubo más contenido de betaninas en el jugo termoultrasonificado (206.44 mg EB/100 mL) en comparación con los jugos pasteurizados. Mientras que en betaxantinas, el jugo termoultrasonificado fue el que mostró los menores valores (126.08 mg EB/100 mL). Se ha informado que durante la aplicación de ultrasonido, la presión de oxígeno reduce la estabilidad de las betalainas, produciendo su degradación (Khan, 2016), en este caso principalmente de las betaxantinas. También se ha reportado que la estabilidad disminuye considerablemente al alcanzar temperaturas de entre 50 y 80 °C (Havlíková *et al.*, 1983; Saguy, Kopelman & Mizrahi, 1978) y cabe mencionar que para la obtención de jugos termoultrasonificados, estas tenían que presentar una temperatura de salida de 50 °C, por lo que puede afectar a las betaxantinas.

Después de ser sometido a un modelo de digestión *in vitro*, todos los tratamientos y el control presentaron diferencias significativas entre ellos, siendo el jugo PAST2 el que arrojó la máxima cantidad ($p < 0.05$) de betaninas y betaxantinas bioaccesibles (7.76 mg EB/100 mL y 3.72 mg EB/100 mL, respectivamente), seguido por el jugo TUS (8.86 mg EB/100 mL y 3.01 mg EB/100 mL, respectivamente). El PAST2, tanto en betaninas como en betaxantinas, arrojaron los altos porcentajes de bioaccesibilidad con respecto a su muestra original (4.68 y 2.66%, respectivamente). Los bajos valores en la bioaccesibilidad de betalainas de todos los jugos, se atribuye a que estas son estables a un pH entre 3.5 a 7.0 y al ser sometidos a condiciones más ácidas (pH de 2.0), se produce una descarboxilación de la molécula donde se elimina un grupo carboxilo, lo que reduce su estabilidad (Herbach, Stintzing & Carl, 2006). Se ha reportado que el porcentaje de la fracción bioaccesible de betaninas en el jugo de betabel fresco, fue de 38% y de betaxantinas del 11% (Tesoriere *et al.*, 2008) y en este estudio fueron de 2.63 y 1.51%, respectivamente, estos resultados no fueron similares a este trabajo, sin embargo, se observa que hay una similitud en que las betaninas son mayores en

ambos trabajos. A pesar del bajo contenido de betalaínas en la fracción bioaccesible, es relevante su absorción, ya que en numerosos estudios se ha informado que estos compuestos tienen capacidad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* en una variedad de modelos animales (Pavlov, Georgiev & Ilieva, 2005; Tesoriere *et al.*, 2004; Vidal *et al.*, 2014; Vulić *et al.*, 2014; Zielińska-Przyjemska *et al.*, 2009), estas propiedades desarrollan un papel importante en patologías clínicas caracterizadas por estrés oxidativo e inflamación crónica, como enfermedad hepática (Ninfali & Angelino 2013; Vulić *et al.*, 2014), artritis (Pietrzkowski *et al.*, 2010) e incluso cáncer (Das, Das & Kukreja, 2013; Kapadia *et al.*, 2011; Kapadia *et al.*, 2003; Kapadia *et al.*, 2013).

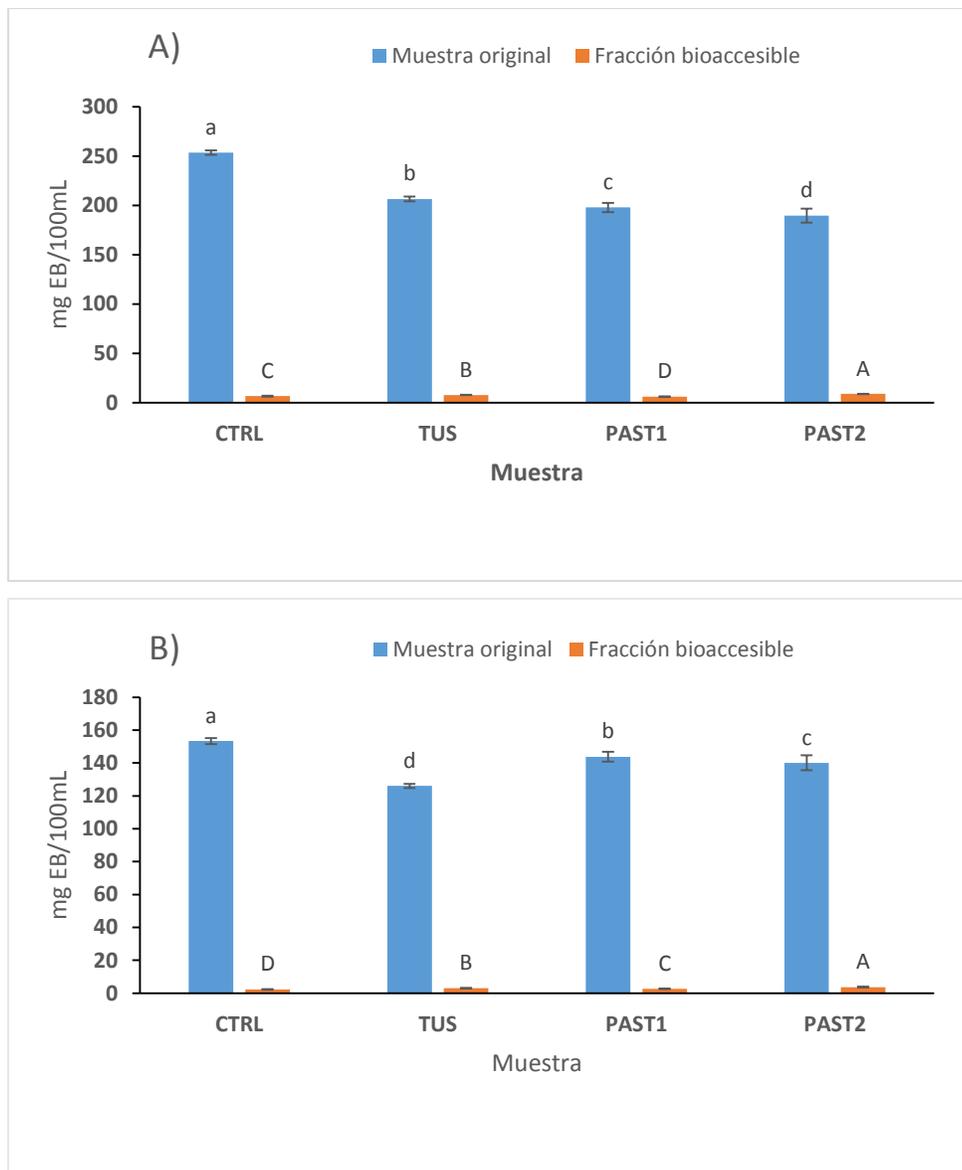


Figura 19. Contenido de betalaínas en jugos de betabel. Betaninas (A) y betaxantinas (B). CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-d} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-D} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

3.11.6. Contenido de fenoles totales

De acuerdo con la figura 20, el jugo PAST2 expresó los máximos valores ($p < 0.05$) (202.7 mg EAG/100 mL) antes de la bioaccesibilidad, en comparación al resto de los tratamientos, seguido por el jugo TUS (171.68 mg EAG/100 mL) y PAST1 (174.34 mg EAG/100 mL), los cuales no mostraron diferencia significativa. El valor más alto observado en el jugo TUS en relación al control, podría atribuirse a la adición de radicales hidroxilo (OH⁻) generados de forma sonocquímica al anillo aromático de los compuestos fenólicos aumentando la actividad antioxidante (Ashokkumar *et al.*, 2008; Bhat *et al.*, 2011) en cuanto al PAST1, el incremento en la concentración fenólica sugiere que los fenoles vinculados a la matriz alimentaria u otros constituyentes alimentarios se liberan debido a la influencia del tratamiento, mejorando su capacidad de extracción y, por lo tanto, su contenido (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015). De hecho, Wang, He y Chen (2014) informaron que la alta temperatura aumenta el contenido de sustancias fenólicas debido a la descomposición de la estructura de la pared celular y la hidrólisis de los polisacáridos. Además, es posible que estos tratamientos inactiven las enzimas relacionadas con la pérdida de sustancias fenólicas como la polifenoloxidasas o aumenten la actividad de las enzimas que participan en la biosíntesis de fenoles (es decir, la fenilalanina amoniaco-lisis) (Morales-de la Peña *et al.*, 2011), y esto se ve reflejado en PAST1 que obtuvo la mayor inactivación de la enzima polifenoloxidasas.

Después del proceso de digestión *in vitro*, los compuestos fenólicos fueron cuantificados en la fracción dializada, los tratamientos TUS, PAST1 y PAST2 presentaron 70.38, 67.23 y 68.62 mg EAG/100 mL, respectivamente, sin mostrar diferencia significativa entre ellos, siendo el CTRL el que arrojó los más altos valores ($p < 0.05$) (80.1 mg EAG/100 mL), así como el mayor porcentaje de bioaccesibilidad con 50.72%. Estos resultados sugieren que una liberación incompleta de estos compuestos ocurrió durante la digestión (Ramírez-Moreno *et al.*, 2011). Estudios previos también han notado una baja estabilidad de los fenoles en condiciones gástricas (Mosele *et al.*, 2015; Kamiloglu, & Capanoglu, 2013), así como una mayor pérdida por el efecto del pH (pH de 7.0) y las sales biliares (Vallejo *et al.*, 2004). También se ha reportado que la fracción no absorbida en intestino delgado, pasa al

intestino grueso (Sengul, Surek & Nilufer-Erdil, 2014), ya que ahí con ayuda de la microbiota intestinal, los fenoles podrían ser absorbidos, donde sus metabolitos y compuestos generados darán protección al colon (Rein *et al.*, 2013; Williamson & Clifford, 2010). Saura-Calixto *et al.* (2007), encontraron en las frutas de manera general un porcentaje del 41% de bioaccesibilidad de compuestos fenólicos, valores similares a este trabajo, a pesar de ser un tubérculo. Estos compuestos, son los antioxidantes más abundantes en nuestras dietas y son agentes reductores que, junto con otros agentes reductores de la dieta como la vitamina C, la vitamina E y los carotenoides, protegen los tejidos del cuerpo contra el estrés oxidativo, por lo que pueden prevenir diversas enfermedades asociadas con esto, como cánceres, enfermedades cardiovasculares, inflamación y otras (Scalbert & Williamson, 2000).

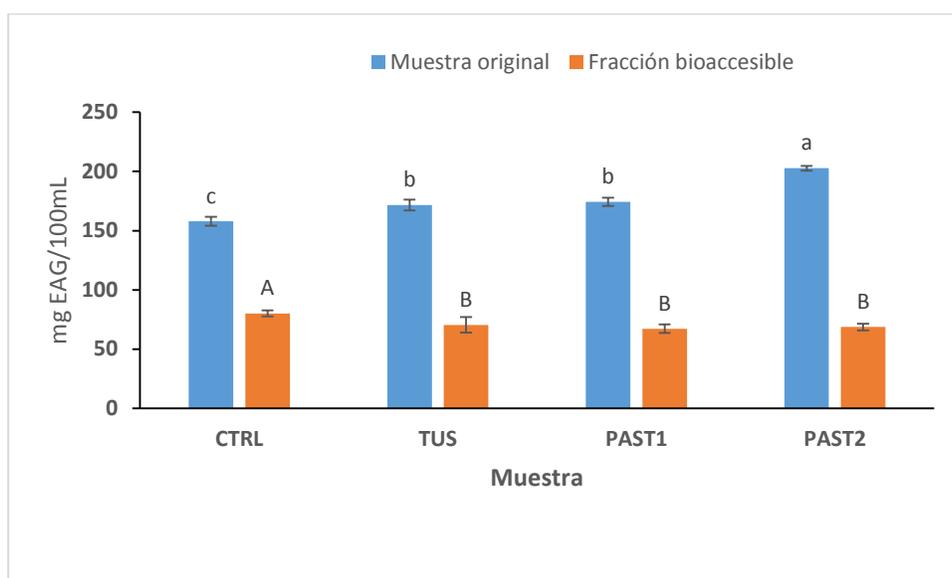


Figura 20. Contenido de fenoles en jugo de betabel. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-c} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-B} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

3.11.7 Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los alimentos es determinada por una mezcla de antioxidantes con diferentes mecanismos de acción (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008), los métodos más comúnmente usados son los radicales ABTS y DPPH (Ali *et al.*, 2008; Almeida *et al.*, 2011; Kuskoski *et al.*, 2005). En la figura 21 se muestran los resultados obtenidos de actividad antioxidante medida por ABTS, DPPH, FRAP y porcentaje de actividad quelante, así como sus fracciones bioaccesibles. Se puede ver que todos los jugos fueron diferentes ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante por ABTS (Figura 21A), siendo el control el que obtuvo las mayores cantidades ($138.82 \pm 2.3 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$), seguido por la muestra TUS ($130.74 \pm 2.79 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$) en relación a los demás. Al realizar la técnica de bioaccesibilidad, todos los tratamientos fueron más altos con respecto a su muestra original. El jugo fresco obtuvo menor bioaccesibilidad ($170.27 \pm 14.24 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$) en relación al resto de los tratamientos, siendo el PAST2 el que tuvo alta bioaccesibilidad ($196.49 \pm 4.95 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$), mientras que el PAST1 y TUS se comportaron de manera similar (194.7 ± 9.36 y $186.06 \pm 4.93 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$, respectivamente), sin embargo, PAST1 obtuvo un mayor porcentaje de absorción con un 70.54% más en base al jugo original.

Para la actividad antioxidante por DPPH, como se aprecia en la figura 21B, PAST1 y PAST2 obtuvieron los altos resultados significativamente (751.59 ± 28.84 y $730.88 \pm 55.8 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$, respectivamente), en comparación con el jugo fresco y termoultrasonificado. En la fracción bioaccesible, el tratamiento TUS presentó los menores valores ($373.18 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$) ($p < 0.05$) en contraste al resto de los jugos, siendo PAST1 y PAST2 los que arrojaron el mayor porcentaje de bioaccesibilidad con 123.39 y 121.25%, respectivamente.

En los resultados de FRAP (Figura 21C), el jugo TUS así como el PAST2, mostraron los menores valores ($p < 0.05$) (23.37 ± 0.6 y $24.43 \pm 0.76 \mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$, respectivamente) en contraste al resto de las muestras.

Después de la fase de digestión, el máximo poder reductor fue en el jugo PAST1 ($10.91 \pm 0.63 \mu\text{mol Fe (II)}/100\text{mL}$) y PAST2 ($10.49 \pm 1.23 \mu\text{mol Fe (II)}/100\text{mL}$) ($p > 0.05$), así como alto porcentaje de bioaccesibilidad (42.55 y 42.94%, respectivamente).

Bermúdez-Soto *et al.* (2007), encontraron que después de la fase de digestión pancreática, estos antioxidantes son degradados por el pH alcalino, dando así una pérdida general en la capacidad antioxidante después de la digestión *in vitro*, como en nuestro estudio.

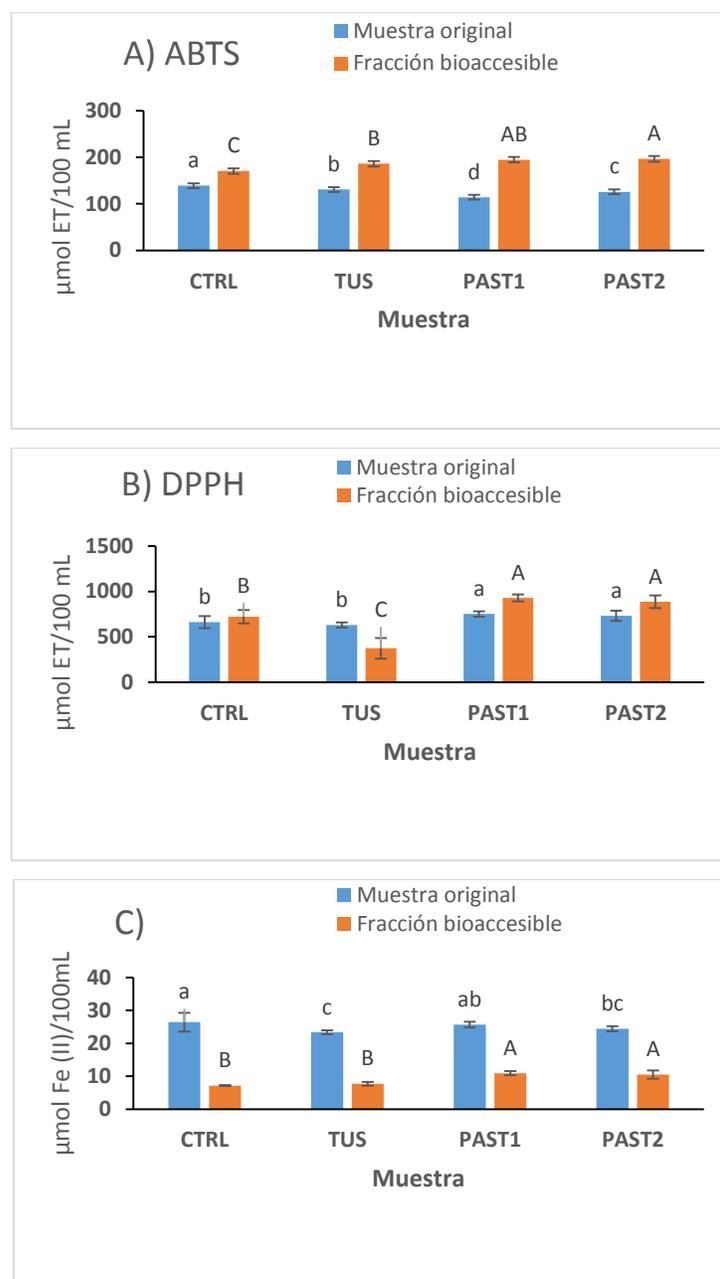


Figura 21. Actividad antioxidante. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-d} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-C} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

El jugo CTRL presentó un incremento ($p<0.05$) en el porcentaje de actividad quelante (87.54%) en relación al resto de las muestras, seguido por la muestra TUS (77.22%), esta obtuvo significativamente la mayor porción bioaccesible en contraste al resto de los jugos, sin embargo, PAST1 (94.35%) y PAST2 (96.81%) mostraron altos porcentajes de quelación en relación a la muestra original (Figura 22).

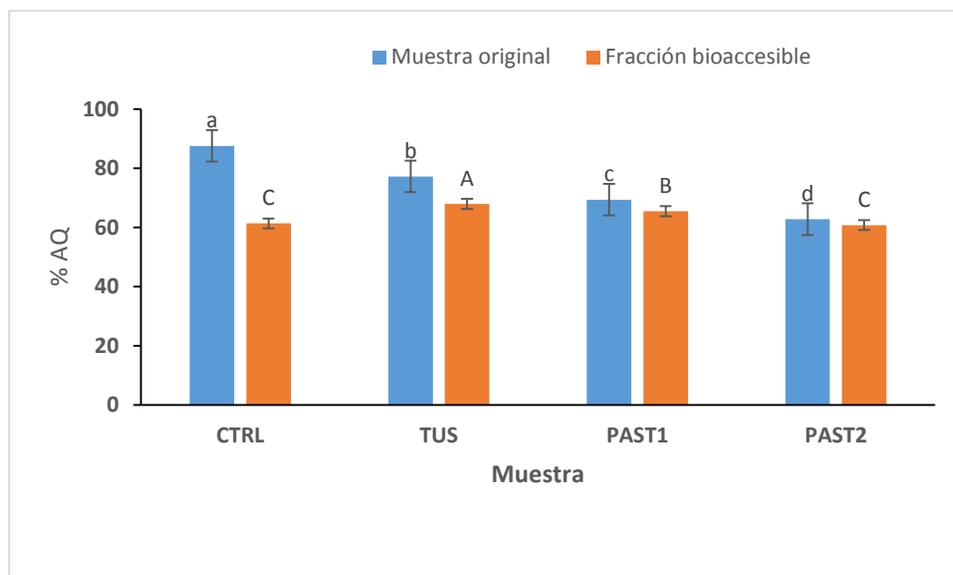


Figura 22. Actividad quelante en muestras de jugo de betabel. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado; PAST1: pasteurización a 70 °C por 20 min y PAST2: pasteurización a 80 °C por 10 min. ^{a-d} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre las muestras. ^{A-C} Letras diferentes arriba de barra indican diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre las muestras

Se ha demostrado, que el ultrasonido aumenta la capacidad de extracción de antioxidantes en jugos (Bhat *et al.*, 2011), por la interrupción de las paredes celulares biológicas para facilitar la liberación de compuestos antioxidantes (Vinatoru, 2001). También, en general, a medida que aumenta el contenido fenólico total en un producto vegetal después de cualquier tipo de tratamiento, se produce un aumento correspondiente en la capacidad antioxidante (Gardner, White, McPhail & Duthie,

2000), ya que los fenoles pueden actuar como aceptadores de radicales (Ashokkumar *et al.*, 2008).

Como se mencionó anteriormente, los compuestos fenólicos son capaces de estabilizar radicales libres como los de FRAP (Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016), debido a esto, si se disminuye la actividad antioxidante, en algunos casos podría deberse a la destrucción de compuestos fenólicos lábiles al calor presentes en los jugos (Cortes, Esteve & Frígola, 2008).

Respecto a la bioaccesibilidad intestinal *in vitro*, la disminución de actividad antioxidante, puede ser debido a múltiples razones como cambios de pH, cambios de estructura, pérdida de ácido ascórbico, compuestos fenólicos totales y betalainas (Bouayed, Hoffman & Bohn, 2011; Cilla *et al.*, 2011; de Lima *et al.*, 2014; Herbach *et al.*, 2006; Ramírez-Moreno *et al.*, 2011; Scalbert & Williamson, 2000; Tagliazucchi *et al.*, 2010), asimismo, es atribuido a que los antioxidantes son destruidos, inhibidos o transformados, ocasionando una menor disponibilidad durante esta fase (Wootton-Beard, Moran & Ryan, 2011) como lo observado en este jugo, sin embargo, a pesar de obtener una baja bioaccesibilidad de algunos de los compuestos, estos son importantes debido a que se ha demostrado que tienen beneficios en la salud del consumidor, ya que varios estudios informan que el betabel, en forma de un suplemento de jugo, protege contra el daño oxidativo a las estructuras de ADN, lípidos y proteínas *in vitro* (Kujawska *et al.*, 2009; Pietrzkowski *et al.*, 2010; Winkler, Wirleitner, Schroecksnadel, 2005), ejerciendo sus efectos antioxidantes con la eliminación de especies radicales (Wootton-Beard & Ryan, 2011).

Se demostró que en ratas a las cuáles se les suministró jugo de betabel (8 mL/kg de peso/día) durante 28 días, demostraron que atenúa la peroxidación lipídica, la oxidación de proteínas y el daño del ADN después de una lesión hepática inducida por xenobióticos (Kujawska *et al.*, 2009). También, en dos jugos de betabel comerciales, se inhibió la formación de radicales *in vitro* en los ensayos ABTS y DPPH en un 100% y 92%, respectivamente (Clifford *et al.*, 2015).

En otro estudio mostraron que FRAP del jugo de betabel en realidad aumenta después de la digestión simulada (Wootton-Beard & Ryan, 2011). Esto es probablemente una

consecuencia de la alteración estructural de varios compuestos a metabolitos secundarios que poseen funciones antioxidantes, como los compuestos fenólicos (Wootton-Beard & Ryan, 2011; Wootton-Beard, Moran & Ryan, 2011).

4. CONCLUSIONES

Las muestras termoultrasonizadas no presentan cambios importantes en las propiedades como el pH, acidez titulable y viscosidad, sin embargo, se observa un aumento importante en la estabilidad proporcionándole mayor uniformidad al jugo, siendo un cambio positivo ya que las partículas se mantienen suspendidas en el jugo.

De acuerdo a la primera etapa llevada a cabo en esta investigación, se puede concluir que esta tecnología es efectiva, ya que las 13 muestras tratadas disminuyen la carga microbiana de mesófilos aerobios y enterobacterias entrando así, en el margen permitido establecido por la FDA para la inocuidad de los alimentos, también inactivan las enzimas pectinmetilesterasa y polifenoloxidasas, componentes que afectan la calidad del jugo como el sabor y color, asimismo, aumentan el contenido de betaninas (131.02-145.43 mg EB/100 mL) y la actividad antioxidante por el método ABTS (215.69-308.78 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$).

Las variables que se ajustan al modelo matemático de superficie de respuesta, son índice de turbidez, contenido de betaninas, betaxantinas y de fenoles totales, actividad antioxidante por los métodos ABTS, DPPH, FRAP y actividad quelante, encontrando que la condición óptima de procesamiento es de 80%/10.5 min.

Para el coeficiente de regresión, la amplitud (b_1) afecta significativamente la actividad antioxidante por ABTS y por FRAP; la turbidez, el contenido de fenoles totales y FRAP son influenciados por el tiempo (b_2); la actividad quelante por la interacción de amplitud y tiempo (b_{12}) y las betaxantinas por la amplitud (b_{11}). FRAP, así como betaninas, betaxantinas y DPPH son afectadas por el tiempo (b_{22}). Todo esto refleja mayor contenido de betaninas, actividad antioxidante por el método ABTS y actividad quelante.

En cuanto a la segunda etapa, en la comparación del jugo termoultrasonizado con los dos pasteurizados, el jugo TUS tiene similar contenido de fenoles totales que el jugo PAST1, así como un incremento en el contenido de betaninas, actividad antioxidante medida por ABTS, quelante y una mayor disminución de microorganismos y actividad enzimática, en relación a los dos jugos pasteurizados.

Posterior al proceso de digestión intestinal *in vitro*, las muestras TUS y PAST1 no muestran diferencia significativa sobre el contenido de fenoles totales, actividad antioxidante por el método ABTS y la muestra TUS tiene mejor actividad quelante que ambos jugos pasteurizados.

El termoultrasonido es una tecnología similar o mejor que la pasteurización, ya que mantiene las propiedades del jugo de betabel, aumenta su contenido en algunos compuestos bioactivos, lo que da como resultado, un producto de buena calidad, inocuo y que proporciona nutrientes necesarios para mantener y mejorar la salud de quien lo consuma.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Abadio, F. D. B., Domingues, A. M., Borges, S. V., & Oliveira, V. M. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice—effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, *64*(3), 285-287.
- Abid, M., Hua, B., Wua, S., & Khan, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrason. Sonochem*, *21*, 984-990.
- Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Mohamed Ahmed, I. A., & Babiker, E. E. (2017). Effects of thermosonication and orange by-products extracts on quality attributes of carrot (*Daucus carota*) juice during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, *52*(9), 2115–2125.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., & Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food research international*, *41*(1), 1-15.
- Allegra, M., Tesoriere, L., & Livrea, M. A. (2007). Betanin inhibits the myeloperoxidase/nitrite-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Free radical research*, *41*(3), 335-341.
- Almeida, M. M. B., de Sousa, P. H. M., Arriaga, Â. M. C., do Prado, G. M., de Carvalho Magalhães, C. E., Maia, G. A., & de Lemos, T. L. G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, *44*(7), 2155-2159.
- Amaral, A. S., Anghinoni, I., & Deschamps, F. C. (2004). Resíduo de plantas de cobertura e mobilidade dos produtos da dissolução do calcário aplicado na superfície do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, *28*(1), 115-123.
- AOAC. "Official Methods of analysis of AOAC International"; 920.151 (Solids (Total) in fruits and fruit products); 940.26 (Ash of fruits and fruit products); 942.15 (Acidity (Titratable) of fruit products). 16^a ed. (1999).
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilkh, K., & Versteeg, C. K. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *9*(2), 155-160.

- Aular, J., Ruggiero, C., & Durigan, J. (2002). Relación entre el color de la cáscara y las características del fruto y jugo de la parchita maracuyá. *Bioagro*, 14(1), 47-51.
- Babagil, A., Tasgin, E., Nadaroglu, H., & Kaymak, H. C. (2018). Antioxidant and Antiradical Activity of Beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.) Grown Using Different Fertilizers. *Journal of Chemistry*, 2018.
- Barbosa-Cánovas, G. V., & Zhang, Q. H. (Eds.). (2019). *Pulsed electric fields in food processing: fundamental aspects and applications*. CRC Press.
- Barteri, M., Diociaiuti, M., Pala, A., & Rotella, S. (2004). Low frequency ultrasound induces aggregation of porcine fumarase by free radicals production. *Biophysical chemistry*, 111(1), 35-42.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bermudez-Soto, M. J., Tomas-Barberan, F. A., & Garcia-Conesa, M. T. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102, 865e874.
- Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L., & Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6), 1295–1300.
- Bond, V., Jr., Curry, B.H., Adams, R.G., Asadi, M.S., Millis, R.M., & Haddad, G.E. (2013). Effects of dietary nitrates on systemic and cerebrovascular hemodynamics. *Cardiology Research and Practice*, 435–629.
- Bondonno, C.P., Downey, L.A., Croft, K.D., Scholey, A., Stough, C., Yang, X., Considine, M.J., Ward, N.C., Puddey, I.B., Swinny, E., *et al.* (2014). The acute effect of flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach on cognitive performance and mood in healthy men and women. *Food Function*, 5, 849–858.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food chemistry*, 128(1), 14-21.
- Breese, B. C., McNarry, M. A., Marwood, S., Blackwell, J. R., Bailey, S. J., Jones, A.

- M. (2013). Beetroot juice supplementation speeds O₂ uptake kinetics and improves exercise tolerance during severe-intensity exercise initiated from an elevated metabolic rate. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 305, R144150.
- Briones-Rodríguez, *et al.* (2005). Proceso de elaboración de yogur y su presentación en página web. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. *Tesis en Ingeniería Agroindustrial*. pp: 8-10.
- Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A. M., Kohen, R., & Livrea, M. A. (2002). Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6895-6901.
- Cansino, N. C., Carrera, G. P., Rojas, Q. Z., Olivares, L. D., García, E. A., & Moreno, E. R. (2013). Ultrasound processing on green cactus pear (*Opuntia ficus Indica*) juice: physical, microbiological and antioxidant properties. *Journal of Food Processing & Technology*, 4(9), 1-6.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.
- Cano, M. P., Hernández, A., & De Ancos, B. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62(1), 85-88.
- Cásseres, E. (1981). Producción de hortalizas. Costa Rica: Editorial IICA. pp. 267.
- Cervantes, A. (2015). *Optimización de las condiciones de termoultrasonificación del jugo de zarzamora sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes* (tesis de maestría). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Cervantes-Elizarrarás, A., *et al.* (2017). Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 371-379.

- Chakraborty, S., Baier, D., Knorr, D., & Mishra, H. N. (2015). High pressure inactivation of polygalacturonase, pectinmethylesterase and polyphenoloxidase in strawberry puree mixed with sugar. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 281e291.
- Chandran, J., Nisha, P., Rekha, S., Singhal, & Anirudha, B. (2012) Degradation of colour in beetroot (*Beta vulgaris* L.): a kinetics study. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2678-2684.
- Chávez, J. (2004). Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de Ciencias, *Departamento de Química*. UNALM.
- Chawla, H., Parle, M., Sharma, K., & Yadav, M. (2016). Beetroot: A Health Promoting Functional Food. *Nutraceuticals*, 1-5.
- Chen, C. S., & Wu, M. C. (1998). Critical review: kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterases in citrus juices. *Journal of Food Science*, 63(5), 747–750.
- Chen, C., Zhao, W., Yang, R., & Zhang, S. (2012). Effects of pulsed electric field on colloidal properties and storage stability of carrot juice. *International journal of food science & technology*, 47(10), 2079-2085.
- Cheng, L., Soh, C., Liew, S., & Teh, F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104(4), 1396–1401.
- Chhikara, N., Kushwaha, K., Jaglan, S., Sharma, P., & Panghal, A. (2019). Nutritional, physicochemical, and functional quality of beetroot (*Beta vulgaris* L.) incorporated Asian noodles. *Cereal Chemistry*, 96(1), 154-161.
- Cilla, A., Perales, S., Lagarda, M. J., Barberá, R., Clemente, G., & Farré, R. (2011). Influence of storage and in vitro gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity of fruit beverages. *Journal of food composition and analysis*, 24(1), 87-94.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D., & Stevenson, E. (2015). The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. *Nutrients*, 7(4), 2801–2822.
- Coles, L. T., & Clifton, P. M. (2012). Effect of beetroot juice on lowering blood pressure in free-living, disease-free adults: a randomized, placebo-controlled trial. *Nutrition Journal*, 11, 106.

- Cortes, C., Esteve, M.J. & Frígola, A. (2008). Effect of refrigerated storage on ascorbic acid content of orange juice treated by pulsed electric fields and thermal pasteurization. *European Food Research Technology*, 227, 629–635.
- Cruz-Cansino, N. D. S., Montiel-Columna, N. I., Bautista-Velueta, P. G., Pérez-Tinoco, M. R., Alanís-García, E., & Ramírez-Moreno, E. (2016). Optimization of Thermoultrasound conditions for the processing of a prickly pear juice blend (*Opuntia ficus indica*) using response surface methodology. *Journal of food quality*, 39(6), 780-791.
- Cruz-Cansino, N. del S., Ramírez-Moreno, E., León-Rivera, J. E., Delgado-Olivares, L., Alanís-García, E., Ariza-Ortega, J. A., Manríquez-Torres, J.J., & Jaramillo-Bustos, D. P. (2015). Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 277–286.
- Cruz, M., Vieira, C. & Silva, L. (2008). Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 483-488.
- Das, S., Williams, D.S., Das, A., & Kukreja, R.C. (2013). Beet root juice promotes apoptosis in oncogenic MDA-MB-231 cells while protecting cardiomyocytes under doxorubicin treatment. *Journal of Experimental Secondary Science*, 2, 1–6.
- Davignon, J. & Ganz, P. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 109, 27–32.
- de Lima, A. C. S., Soares, D. J., da Silva, L. M. R., de Figueiredo, R. W., de Sousa, P. H. M., & de Abreu Menezes, E. (2014). In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food chemistry*, 161, 142-147.
- De Sio, F., Dipollina, G., Villari, G., Loiudice, R., Laratta, B., & Castaldo, D. (1995). Thermal resistance of pectin methylesterase in tomato juice. *Food Chemistry*, 52(2), 135-138.

- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *40*, 173–289.
- Demirdoven, A., & Baysal, T. (2009). The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Reviews International*, *25*, 1–11.
- Dubrović, I., Herceg, Z., Jambrak, A.R., Badanjak, M. & Dragović-Uzelac, V. (2011). Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin content in strawberry juice. *Food Technology and Biotechnology*, *49*(2), 196-204.
- Dürüst, N., Dogan, S., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of food of Trabzon (Turkey). *Journal of agricultural and food chemistry*, *45*(6), 2085-7.
- Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. (2016). Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. *Phytotherapy Research*, *30*(9), 1379-1391.
- Fagundes, C., Moraes, K., Pérez-Gago, M. B., Palou, L., Maraschin, M., & Monteiro, A. R. (2015). Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, *109*, 73-81.
- Fideicomiso de riesgo compartido (FIRCO). (2018). Jícama. Recuperado de: <https://www.gob.mx/firco/es/articulos/jicama-nutritiva-y-deliciosa?idiom=es>
- Food and Drug Administration (FDA). (2001). Hazard analysis and critical control point (HACCP): procedures for the safe and sanitary processing and importing of juices, Final rule. *Federal Register*, *66*(13), 6137–6202.
- Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., de Miranda, M. R. A., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters. *Food Research International*, *48*(1), 41–48.
- Gardner, P. T., White, T. A., McPhail, D. B., & Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food chemistry*, *68*(4), 471-474.
- Garzón, T. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *22*(3), 330-338.

- Gliszczyńska-Świgło, A., Szymusiak, H., & Malinowska, P. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food additives and contaminants*, 23(11), 1079-1087.
- Gülçin, I., Buyukokuroglu, M. E. & Kufrevioglu, O. I. (2003). Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 34, 278-281.
- Haj Koubaier, Snoussi, A., Essaidi, I., Chaabouni, M., Thonart, P., & Bouzouita, N. (2014). Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of tunisian red beet (*Beta vulgaris* L. *conditiva*) roots and stems extracts. *International journal of food properties*, 17(9), 1934-1945.
- Halliwell, B., & Gutteridge, JMC. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Second Edition Oxford, UK, Clarendon Press. pp. 22.
- Havlíková, L., Miková, K., & Kyzlink, V. (1983). Heat stability of betacyanins. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 177(4), 247-250.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation—structural and chromatic aspects. *Journal of food science*, 71(4), R41-R50.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) monitored by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219, 377-385.
- Hobbs, D.A., Kaffa, N., George, T.W., Methven, L., & Lovegrove, J.A. (2012). Blood pressure-lowering effects of beetroot juice and novel beetroot-enriched bread products in normotensive male subjects. *British Journal of Nutrition*, 108, 2066–2074.
- Hoover, D.G. (2000). Supplement Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. *Ultrasound. J. Food Sci*, 65, s8:93-95.
- Ibarz, A., Pagán, J., & Garza, S. (1999). Kinetic models for colour changes in pear puree during heating at relatively high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 39(4), 415–422.
- Irwe, S., & Olsson, I. (1994). Reduction of pectinesterase activity in orange juice by high pressure treatment. In: Singh RP and Oliveira FAR, editors. *Minimal*

- processing of foods and process optimization - an interface. Boca Raton, Fla.: CRC Press. pp. 35-42.
- Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Hashim, M. M., Lei, S., Wu, T., & Zeng, X. (2015). Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7002–7013.
- Järcau, M. (2013). Physical properties of mustard seeds and how they are influenced by packaging. *Food and environment safety*, 12(3), 247-252.
- Jeyamkondan, S., Jayas, D. S., & Holley, R. A. (1999). Pulsed electric field processing of foods: a review. *Journal of food protection*, 62(9), 1088-1096.
- Joris, P.J. & Mensink, R.P. (2013). Beetroot juice improves in overweight and slightly obese men postprandial endothelial function after consumption of a mixed meal. *Atherosclerosis*, 231, 78–83.
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat and ultrasound assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380.
- Kaimainen, M., Laaksonen, O., Järvenpää, E., Sandell, M., & Huopalahti, R. (2015). Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. *Food Chemistry*, 187, 398-406.
- Kamiloglu, S., & Capanoglu, E. (2013). Investigating the in vitro bioaccessibility of polyphenols in fresh and sun-dried figs (*Ficus carica* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 2621-2629.
- Kanner J., Harel S., & Granit R. (2001). Betalains—a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178–5185.
- Kapadia, G.J., Azuine, M.A., Rao, G.S., Arai, T., Iida, A., & Tokuda, H. (2011). Cytotoxic effect of the red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract compared to doxorubicin (Adriamycin) in the human prostate (PC-3) and breast (MCF-7) cancer cell lines. *Anti -Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11, 280–284.
- Kapadia, G.J., Azuine, M.A., Sridhar, R., Okuda, Y., Tsuruta, A., Ichiishi, E., Mukainakec, T., Takasakid, M., Konoshimad, T., Nishinoc, H., et al. (2003).

- Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacological Research*, 47, 141–148.
- Kapadia, G.J., Rao, G.S., Ramachandran, C., Iida, A., Suzuki, N., & Tokuda, H. (2013). Synergistic cytotoxicity of red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract with doxorubicin in human pancreatic, breast and prostate cancer cell lines. *Journal of Complementary Medicine Research*, 10, 113–122.
- Kapil, V., Khambata, R. S., Robertson, A., Caulfield, M. J., Ahluwalia, A. (2014). Dietary nitrate provides sustained blood pressure lowering in hypertensive patients: a randomized, phase 2, double-blind, placebo-controlled study. *Hypertension*, 65, 3207.
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153–161.
- Kathiravan, T., Nadanasabapathi, S., & Kumar, R. (2014). Standardization of process condition in batch thermal pasteurization and its effect on antioxidant, pigment and microbial inactivation of Ready to Drink (RTD) beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice. *International Food Research Journal*, 21(4), 1305.
- Khan, M.I. (2016). Stabilization of betalains: a review. *Food & Chemistry*, 197 (Part B), 1280–1285.
- Kimball, D. (2012). Citrus processing: quality control and technology. Springer Science & Business Media. pp: 121-122.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V & Lee, D.U. (2004). Applications and potential of ultrasonic in food processing. *Journal of Food Science & Technology*, 15, 261-266.
- Kujawska, M., Ignatowicz, E., Murias, M., Ewertowska, M., Mikołajczyk, K., & Jodynis-Liebert, J. (2009). Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 2570-2575.
- 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. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.

- Lee, C., Wettasinghe, M., Bolling, W., Ji, L., & Parkin Kirk, L. (2005). Betalains, Phase II Enzyme-Inducing Components From Red Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extracts. *Nutrition and Cancer*, 53(1), 91–103.
- Leighton, T. (1998). The principles of cavitation. En: M. J. W. Povey & T. J. Mason (Eds.). *Ultrasound in food processing*. London: Blackie Academic and Professional. pp. 151–178.
- Lidder, S. & Webb, A.J. (2013). Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75, 677–696.
- Llancari, A., & Matos, A. (2011). Valoración de los nutrientes y antioxidantes en la salud humana e industria alimentaria. En: Universidad Peruana Unión. I Congreso Nacional de Investigación. Perú, Lima. pp. 2-4.
- López, E. (2018). *Optimización del proceso de termoultrasonido en aguamiel de maguey manso (Agave atrovirens Karw) sobre sus propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y antioxidantes* (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- López, P., & Burgos, J. (1995). Lipoxygenase inactivation by manothermosonication: Effects of sonication physical parameters, pH, KCl, sugars, glycerol, and enzyme concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 620-625.
- López, P., Sala, F.J., Fuente, J.L., Cardón, S., Raso, J., & Burgos, J. (1994). Inactivation of peroxidase lipoxygenase and phenol oxidase by manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(2), 253-256.
- Lundberg, J. O., Gladwin, M. T., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Bryan, N. S., Butler, A., et al. (2009). Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nature Chemical Biology*, 5, 8659.
- Lundberg, J.O., Weitzberg, E., & Gladwin, M.T. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews*, 7, 156–167.
- Maca, M., Osorio, O. & Mejía, D. (2013). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Información Tecnológica*, 24(3), 41-50.

- Maran, J. P., & Manikandan, S. (2012). Response surface modeling and optimization of process parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit. *Dyes and Pigments*, 95(3), 465-472.
- Marszałek, K., Krzyżanowska, J., Woźniak, Ł., & Skąpska, S. (2017). Kinetic modelling of polyphenol oxidase, peroxidase, pectin esterase, polygalacturonase, degradation of the main pigments and polyphenols in beetroot juice during high pressure carbon dioxide treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 412-417.
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food chemistry*, 172, 650-656.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics sonochemistry*, 3(3), S253-S260.
- Mates, JM. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153, 83–104.
- McLellan, M. R., Lind, L. R., & Kime, R. W. (1995). Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant Hunter L, a, b data. *Journal of food quality*, 18(3), 235-240.
- Mello, D. F., Franzolini, R., Fernandes, L. B., Franco, A. V. M., & Alves, T. C. (2008). Avaliação do resíduo de nabo forrageiro extraído da produção de biodiesel como suplemento para bovinos de corte em pastagens. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 9(1), 45-56.
- Meydav, S., Saguy, I. & Kopelman, I.J. (1977). Browning determination in citrus products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 602–604.
- Miller, D. D., Schricker, B.R, Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(10), 2248-56.
- Miller, G. D., Marsh, A. P., Dove, R. W., Beavers, D., Presley, T., Helms, C., et al. (2012). Plasma nitrate and nitrite are increased by a high-nitrate supplement but not by high-nitrate foods in older adults. *Nutrition Research*, 32, 1608.

- Morales-de la Peña, M., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., & Martín-Belloso, O. (2011). Changes on phenolic and carotenoid composition of high intensity pulsed electric field and thermally treated fruit juice-soymilk beverages during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 129(3), 982–990.
- Morales, F.J., & Jiménez-Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 119–125.
- Morel, M. H., Dehlon, P., Autran, J. C., Leygue, J. P. & Bar-L'Helgouac'h, C. (2000). Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size exclusion high performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry*, 77, 685–691.
- Mosele, J.I., Macia, A., Romero, M.P., Motilva, M.J., & Rubio, L. (2015). Application of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. *J. Funct. Foods*, 14, 529-540.
- Muthukumarappan, K., Tiwari, B., O'Donnell, C. P., & Cullen, P. (2016). 7 Ultrasound Processing: Rheological and Functional Properties of Food. *Novel Food Processing: Effects on Rheological and Functional Properties*, 85.
- Netzel, M., Stintzing, F. C., Quaas, D., Strab, G., Carle, R., Bitsch, R., et al. (2005). Renal excretion of antioxidative constituents from red beet in humans. *Food Research International*, 38, 1051e1058.
- Ninfali, P., & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89, 188–199.
- Núñez, A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana Salud Pública*, 37(suppl.), 644-60.
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 272–279.

- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2002). *Vitaminas*. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0f.htm#bm15>
- Oyane, I., Takeda, T., Oda, Y., Sakata, T., Furuta, M., Okitsu, K., Maeda, Y., & Nishimura, R. (2009). Comparison between the effects of ultrasound and γ -rays on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*: Analyses of cell membrane permeability and DNA or RNA synthesis by flow cytometry. *Ultrasonics sonochemistry*, 16(4), 532-536.
- Panghal, A., VirKAr, K., KumAr, V., Dhull, S. B., Gat, Y., & Chhikara, N. (2017). Development of probiotic beetroot drink. *Current research in nutrition and food science journal*, 5(3).
- Pavlov, A., Georgiev, V., & Ilieva, M. (2005). Betalain biosynthesis by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root culture. *Process Biochemistry*, 40, 1531–1533.
- Pedreno, M. A., & Escribano, J. (2000). Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot. *Journal of Biological Education*, 35(1), 49-51.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, E., Serrano, J., Goñi, I., et al. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41, 274-285.
- Pérez-Trejo, L., Sánchez, A. F. M. & Mercado, A. P. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin-American Journal of Physics Education*, 4(1), 36.
- Peterson, G. (1979). Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall, *Analytical biochemistry*, 100(2), 201-220.
- Pietrkowski, Z., Nemzer, B., Spórna, A., Stalica, P., Tresher, W., Keller, R., Jimenez, R., Michalowski, T., & Wybraniec, S. (2010). Influence of betalain-rich extracts on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. *New Medicine*, 1, 12–17.
- 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 and Bioproducts Processing*, 88, 253–258.

- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 207-216.
- Poels, M.M.F., Ikram, M.A., Vernooij, M.W., Krestin, G.P., Hofman, A., Niessen, W.J., van der Lugt, A., Breteler, M.M.B. (2008). Total cerebral blood flow in relation to cognitive function: The Rotterdam Scan Study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 28, 1652–1655.
- Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Ramírez-Moreno, E., Hervert-Hernández, D., Sánchez-Mata, M. C., Díez-Marqués, C., & Goñi, I. (2011). Intestinal bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity of pulp and seeds of cactus pear. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(8), 839-843.
- Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q. Y., Arias-Rico, J., Ariza-Ortega, J. A., Alanís-García, E., & Cruz-Cansino, N. (2018). Effect of ultrasound on microbiological load and antioxidant properties of blackberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13489.
- Rakin, M., Vukasinovic, M., Siler-Marinkovic, S., & Maksimovic, M. (2007). Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food chemistry*, 100(2), 599-602.
- Rao, M.A. (1999). Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications. New York: Aspen Publishers. s.p.
- Raviyan, P., Zhang, Z., & Feng, H. (2005). Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *Journal of food engineering*, 70(2), 189-196.
- Rawson, A., Patras, Tiwari, B.K, Noci, F., Koutchma, T. & Brunton, N. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic

- fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44, 1875–1887.
- Re, R., Pellegrini N, Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-7.
- Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., & da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British journal of clinical pharmacology*, 75(3), 588-602.
- Rodriguez-Amaya, D. B., & Amaya-Farfan, J. (2018). Nutritional and Functional Attributes of Fruit Products. In *Fruit Preservation* (pp. 45-66). Springer, New York, NY.
- Rodríguez-Roque, M. J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2015). Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods*, 14, 33–43.
- Rodríguez-Sevilla, M. D., Villanueva-Suárez, M. J., & Redondo-Cuenca, A. (1999). Effects of processing conditions on soluble sugars content of carrot, beetroot and turnip. *Food Chemistry*, 66(1), 81-85.
- Rojas, A., & Andres, A. (2000). Extracto Colorante de Tuna Púrpura (*Opuntia ficus indica* L.): Obtención y Comparación con un Colorante comercial de Betarraga (*Beta vulgaris* var. *Hortensis* L.). *Tesis de la Facultad Ciencias Agronómicas*. Universidad de Chile.
- Rojas, M. L., Leite, T. S., Cristianini, M., Alvim, I. D., & Augusto, P. E. D. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22–33.
- Saguy, I., Kopelman, I.J. & Mizrahi, S. (1978). Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 360–362.

- Sala, F. J., Burgos, J., Condon, S., Lopez, P., & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In *New methods of food preservation*. Springer, Boston, MA. pp. 176-204.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2016). *Betabel, un vegetal con mucha historia*. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/betabel-un-vegetal-con-mucha-historia>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). *De la raíz a la punta de las hojas, el betabel es pura salud*. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/de-la-raiz-a-la-punta-de-las-hojas-el-betabel-es-pura-salud?idiom=es>
- Secretaría de Desarrollo Agropecuario (SEDAGRO). (2016). Betabel. Recuperado de: <http://sedagro.hidalgo.gob.mx/?p=6898>.
- Sengul, H., Surek, E., & Nilufer-Erdil, D. (2014). Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an in-vitro gastrointestinal digestion model. *Food Research International*, 62, 1069-1079.
- Seshadri, R., Weiss, J., & Hulbert, J. (2003). Mount, Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high methoxyl pectin dispersions, *Food Hydrocolloids*, 17, 191–197.
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., & Ramaswamy, H. S. (2019). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *LWT*, 101, 342-350.
- Siervo, M., Lara, J., Ogbonmwan, I., Mathers, J. C. (2013). Inorganic nitrate and beetroot juice supplementation reduces blood pressure in adults: a systematic review and meta-analysis1– . *Journal of Nutrition*, 143(6), 818–826.

- Singh, B. & Singh, H. B. (2013). Optimization of osmotically dehydrated beetroot candy using response surface methodology. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 2(1), 15-21.
- Slavov, A., Karagyozev, V., Denev, P., Kratchanova, M., & Kratchanov, C. (2013). Antioxidant activity of red beet juices obtained after microwave and thermal pretreatments. *Czech Journal of Food Sciences*, 31, 139–147.
- Spilt, A., Weverling-Rijnsburger, A.W.E., Middelkoop, H.A.M., van Der Flier, W.M., Gussekloo, J., de Craen, A.J.M., & Westendorp, R.G.J. (2005). Late-onset dementia: Structural brain damage and total cerebral blood flow. *Radiology*, 236, 990–995.
- Sreekanth, D., Arunasree, M.K., Roy, K.R., Reddy, T.C., Reddy, G.V., Reddanna, P. (2007). Betanin, a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine*, 4, 739-746.
- Stintzing, F.C., Schieber, A., & Carle, R. (2002). Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia Ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography– electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2302–2307.
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology-dried watermelon*, 15, 19–38.
- Stintzing, F. C., Trichterborn, J., & Carle, R. (2006). Characterisation of anthocyanin–betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses. *Food chemistry*, 94(2), 296-309.
- Strahsburger, E., Retamales, P., Estrada, J., & Seeger, M. (2016). Método de la microgota: usado con agar cromogénico es un procedimiento útil para el monitoreo sanitario en acuicultura. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 742-749.
- Sulaiman, A., Soo, M. J., Farid, M., & Silva, F. V. M. (2015). Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal

- kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 165, 133–140.
- Supeno, P. K. (2000). Sonochemical formation of nitrate and nitrite in water. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7, 109–113
- Suslick, K.S. (1988). Homogeneous sonochemistry. Chapter in *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*, VCH Publishers, New York. pp. 1499.
- Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120(2), 599-606.
- Tesoriere, L., Allegra, M., Butera, D., & Livrea, M.A. (2004). Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: Potential health effects of betalains in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 941–945.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M., & Livrea, M.A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1266-1270.
- Tesoriere, L., Fazzari, M., Angileri, F., Gentile, C., & Livrea, M. A. (2008). In Vitro Digestion of Betalainic Foods. Stability and Bioaccessibility of Betaxanthins and Betacyanins and Antioxidative Potential of Food Digesta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10487–10492.
- Thakur, V., & Das Gupta, D. K. (2006). Studies on the clarification and concentration of beetroot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 194–207.
- Tian, Z. M., Wan, M. X., Wang, S. P., & Kang, J. Q. (2004). Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(6), 399-404.
- Tiwari, B., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P. & Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1876-1883.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Muthukumarappan, K. & Cullen, P.J. (2009a). Effect of sonication on orange juice quality parameters during storage. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 44, 586–595.

- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P. Muthukumarappan, K. & Cullen, P.J. (2009b). Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. *LWT – Food and Science and Technology*, 42, 700–704.
- Tiwari, B. K., O'Donnell. C. P., Patras, A., Brunton, N. & Cullen, P. J. (2009c). Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228, 717–724.
- Trinidad, T., Wolever, T., & Thompson, L. (1996). Availability of calcium for absorption in the small intestine and colon from diets containing available and unavailable carbohydrates: an in vitro assessment. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 47(1), 83-88.
- USDA. (2011). United State Department of Agriculture. Nutrient Database.
- Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P. & Mahajan, R.T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of Upstream and Downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 7, 65-74.
- Vaillant, F., Millan, A., Dornier, M., Decloux, M., & Reynes, M. (2001). Strategy for economical optimisation of the clarification of pulpy fruit juices using crossflow microfiltration. *Journal of Food Engineering*, 48, 83e90.
- Valdramidis, V.P., Cullen, P.J., Tiwari, B.K. & O'Donnell, C.P. 2010. Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing. *Journal of Food Engineering*, 96, 449–454.
- Vallejo, F., Gil-Izquierdo, A., Pérez-Vicente, A., & García-Viguera, C. (2004). In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin C. *J. Agric. Food Chem*, 52, 135-138.
- Versteeg, C., Rombouts, F.M., Spaansen, C.H., & Pilnik, W. (1980). Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*, 45, 969–972.
- Vidal, P.J., López-Nicolás, J.M., Gandía-Herrero, F., & García-Carmona, F. (2014). Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. *Food Chemistry*, 154, 246–254.

- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonic Sonochemistry*, 8, 303–313.
- Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., & Zubik, L. (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3630–3634.
- Vulić, J.J., Čebović, T.N., Čanadanović-Brunet, J.M., Četković, G.S., Čanadanović, V.M., Djilas, S.M., & Tumbas Šaponjac, V.T. (2014). In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 6, 168–175.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D. A., Lyng, J. G., & Morgan, D. J. (2009). Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food and Bioprocess Processing*, 87(2), 102–107.
- Wang, C. Y., Huang, H. W., Hsu, C. P., & Yang, B. B. (2016). Recent advances in food processing using high hydrostatic pressure technology. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(4), 527-540.
- Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7(1), 101–111.
- Webb, A. J., Patel, N., Loukogeorgakis, S., Okorie, M., Aboud, Z., Misra, S., *et al.* (2008). Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*, 51, 78490.
- Williamson, G., & Clifford, M. N. (2010). Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity? *British Journal of Nutrition*, 104(S3), S48-S66.
- Winkler, C., Wirleitner, B., & Schroecksnadel, K. (2005). In vitro effects of beet root juice on stimulated and unstimulated peripheral blood mononuclear cells. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1, 180.
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion as measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44, 217–224.
- Wootton-Beard, P. C., & Ryan, L. (2011). A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. *Journal of functional foods*, 3, 329–334.

- Wootton-Beard, P.C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International*, *44*, 217–224.
- Wu, J., Gamage, T. V., Vilku, K. S., Simons, L. K., & Mawson, R. (2008). Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *9*(2), 186-195.
- Wu, L.-C., Hsu, H.-W., Chen, Y.-C., Chiu, C.-C., Lin, Y.-I., Ho, J.-A.A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, *95*, 319-327.
- Yashwant, K. (2015). Beetroot: A super food. *International Journal of Engineering Studies and Technical Approach*, *1*(3), 20-26.
- Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, Q. H., & Min, D. B. (2000). Effects of Pulsed Electric Fields on the Quality of Orange Juice and Comparison with Heat Pasteurization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4597–4605.
- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villanueva-Sánchez, J., & Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(5), 1283–1288.
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, *34*(1), 17-26, 655-678.
- Zenker, M., Heinz, V., & Knorr, D. (2003). Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*, *66*, 1642-1649.
- Zhao, C., Giusti, M.M., Malik, M., Moyer, M.P., & Magnuson, B.A. (2004). Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*, 6122–6128.
- Zielińska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Dobrowolska-Zachwieja, A., & Grajek, W. (2009). In vitro effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytotherapy Research: An International*

Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 23(1), 49-55.

Žitňanová, I., Ranostajová, S., Sobotová, H., Demelová, D., Pecháň, I., & Ďuračková, Z. (2006). Antioxidative activity of selected fruits and vegetables. *Biologia*, 61, 279–284.