



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

“Optimización del proceso de extracción por ultrasonido y su efecto sobre la carga microbiana, propiedades fisicoquímicas y antioxidantes en el residuo de betabel (*Beta vulgaris* L.)”.

TESIS

Para obtener el título de:

Licenciado en Nutrición

PRESENTA

P.L.N. José Luis Hernández Traspeña

No. cuenta: 267607

Bajo la Dirección de:

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino

Profesor de Investigación de tiempo completo UAEEH-ICSa

Codirección:

Dra. Esther Ramírez Moreno

Profesor de Investigación de tiempo completo UAEEH-ICSa



San Agustín, Tlaxiaca, Hgo. Febrero 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 del proceso de extracción por ultrasonido y su efecto sobre la carga microbiana, propiedades físicoquímicas y antioxidantes en el residuo de betabel (*Beta vulgaris L.*)”

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

C. José Luis Hernández Traspeña

ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 19 de febrero de 2020
“Amor, Orden y Progreso”

PRESIDENTE:	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
SECRETARIO:	DR. LUIS DELGADO OLIVARES
PRIMER VOCAL:	DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA
SEGUNDO VOCAL:	MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ
TERCER VOCAL:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ GANSINO
PRIMER SUPLENTE:	M. en N.C. ARIANNA OMAÑA COVARRUBIAS
SEGUNDO SUPLENTE:	DRA. DIANA PATRICIA OLIVO RAMÍREZ

Dedicatoria y agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis padres, quienes son mi ejemplo a seguir y me han apoyado en todas las etapas que he tenido, sin importar la decisión que tome o que no estemos de acuerdo con las mismas ideas. Les dedico este trabajo como el reflejo del amor y esfuerzo que día a día tienen hacia mí, sin ustedes no podría cumplir mis metas y sueños ya que todo mi ímpetu, valores y ganas de aprender lo he adquirido de ustedes.

De la misma forma agradezco al resto de mi familia que nunca me dejan solo y siempre me secundan y promueven en todo lo que hago, sobre todo mis hermanas: Ale y Fer, gracias por aguantar mis enojos y momentos de presión, sus pláticas, juegos o bromas son de las cosas que me ayudan a relajarme y poder continuar. También a mi novia Laura, quien me ayuda a distraerme con tantas pláticas, chistes o juegos, y especialmente le agradezco por alentarme y confortarme cuando pienso que ya no puedo más. Aprovecho también para dedicar esto a Mabe, estaría muy orgullosa de mí.

Doctora Nelly: desde el principio me apoyó y dedicó su tiempo mostrando sus ganas por este trabajo. Le agradezco por motivarme e impulsar a dar lo mejor de mí. No dudo en que tomé la mejor decisión para realizar mi servicio, aprendí a ver de diferentes formas mi profesión y sobre todo, de lo que puedo ser capaz si me lo propongo. Gracias por los regaños pero sobre todo, por su compañerismo, amistad y aprendizaje que me dio estos dos años.

Gracias doctora Esther por aceptar ser mi codirectora y tomarse el tiempo de revisar este trabajo, resolver mis dudas y asesorarme cada que iba con usted.

A mis sinodales, Dr. Ernesto, Dr. Luis, Mtra. Arianna, Dra. Diana y Mtro. Teodoro, gracias por el tiempo y dedicación que invirtieron en este trabajo.

A la profesora Claudia, Chava, Gloria, Lili, Alice y Quina, gracias por las pláticas, por brindarme su amistad, aconsejarme y apoyarme con cada duda que surgía dentro y fuera del laboratorio.

Por último, pero no menos importantes, mis acompañantes de laboratorio: Me hubiera gustado conocerlos antes o que hubieran sido parte de mi grupo de la carrera. Son los amigos que no tuve durante esa etapa. Ale, gracias por instruirme al llegar y llegar siempre con ganas de platicar aunque te tenían encerrada en el cubículo; Lis, gracias por tu amistad desde el primer semestre de la carrera, lo logramos y demostramos lo que podemos hacer; Mariel San, que hubiera sido el laboratorio sin pelear y bromear todo el tiempo; Bety, gracias por todas las pláticas y bromas que hicimos; Andrea, la más despistada de todas, gracias por hacerme reír en el laboratorio; José Luis, te convertiste como un hermano, gracias por el apoyo, risas, podcast y demás, nuestra amistad sería desde mucho antes, lamentablemente saliste un tiempo de la carrera, recuerda que tienes a alguien en otro lado apoyándote en todo lo que te propongas. Nery y Lore, llegaron cuando ya estaba terminando este proceso, sin embargo eso no impidió que nos lleváramos tan bien, gracias por su carisma y amistad.

A todos les deseo lo mejor y que sigan cosechando triunfos, no se den por vencidos que tienen la capacidad de hacer todo lo que se propongan.

Índice

Resumen	1
Abstract	3
1. Marco teórico.....	5
1.1 Betabel.....	5
1.2 Cosecha, producción y consumo de betabel	6
1.3 Valor agregado del betabel.....	7
1.4 Composición nutricional y compuestos bioactivos del betabel	7
1.5 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.....	10
1.5.1 Ultrasonido.....	11
1.5.2 Extracción de compuestos en residuos por ultrasonido.....	13
2. Problema de Investigación	14
3. Justificación.....	14
4. Objetivos	15
4.1 General	15
4.2 Específicos	15
5. Diseño metodológico	16
5.1 Obtención del residuo de betabel	19
5.2 Rendimiento.....	19
5.3 Tratamiento de ultrasonido	19
5.3.1Diseño experimental	20
5.4 Separación de fases	22
5.5 Análisis microbiológico.....	22
5.6 Propiedades fisicoquímicas	22

5.6.1 pH.....	22
5.6.2 Acidez titulable.....	23
5.6.3 Sólidos solubles totales	23
5.6.4 Estabilidad	24
5.6.5 Determinación de color	24
5.6.6 Viscosidad	25
5.6.7 Capacidad de retención de agua y lípidos	25
5.7 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.....	26
5.7.1 Extracción por ultrasonido	26
5.7.2 Extracción con agua o etanol.....	26
5.7.3 Extracción agua/etanol	27
5.8 Determinación de compuestos antioxidantes	27
5.8.1 Betalaínas.....	27
5.8.2 Fenoles totales.....	28
5.8.3 Ácido ascórbico.....	28
5.9 Determinación de actividad antioxidante	29
5.9.1 ABTS (ABTS ^{•+} 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico).....	29
5.9.2 DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).....	29
5.9.3 FRAP	30
5.9.4 Actividad quelante.....	30
5.10 Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i>	31
5.11 Microscopía electrónica de barrido	32
6. Análisis estadístico.....	33
7. Resultados y discusión.....	34

7.1 Rendimiento.....	34
7.2 Análisis microbiológico.....	34
7.3 Propiedades fisicoquímicas	36
7.3.1 Color	38
7.3.2 Viscosidad y propiedades funcionales del residuo de betabel.....	42
7.4 Contenido de compuestos bioactivos	46
7.4.1 Betalaínas.....	46
7.4.2 Contenido fenólico total	48
7.4.3 Ácido ascórbico.....	49
7.5 Actividad antioxidante.....	50
7.5.1 ABTS ^{•+}	50
7.5.2 DPPH•.....	52
7.5.3 FRAP	54
7.5.4 Actividad quelante.....	55
7.6 Optimización del residuo de betabel ultrasonificado.....	56
7.7 Reproducibilidad del estudio.....	57
7.8 Comparación del residuo de betabel optimizado por ultrasonido con el control.....	58
7.8.1 Efecto del ultrasonido sobre la estructura del residuo de betabel evaluado por microscopía electrónica de barrido	58
7.8.2 Contenido de microorganismos	59
7.8.3 Propiedades funcionales de la fibra.....	60
7.8.4 Viscosidad	61
7.8.5 Color	62
7.9 Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i>	64

7.9.1 Compuestos fenólicos y betalaínas	64
7.9.2 Actividad antioxidante	65
7.10 Comparación de los diferentes métodos de extracción	67
8 Conclusiones.....	70
9 Bibliografía	72

Índice de Tablas

Tabla 1. Valor nutricional del betabel en fresco y residuo de betabel (g/100 g).	8
Tabla 2. Diseño experimental.....	21
Tabla 3. Rendimiento total del residuo de betabel.	34
Tabla 4. Efecto del tratamiento por ultrasonido en microbiología.....	36
Tabla 5. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre pH, sólidos solubles, acidez titulable y estabilidad.....	38
Tabla 6. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre los parámetros del color	40
Tabla 7. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta	41
Tabla 8. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre viscosidad y propiedades funcionales de la fibra	43
Tabla 9. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta	45
Tabla 10. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre los compuestos antioxidantes.	47
Tabla 11. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta.....	48
Tabla 12. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre la actividad antioxidante.....	51
Tabla 13. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta.....	52
Tabla 14. Reproducibilidad del modelo de superficie de respuesta.	57
Tabla 15. Capacidad y actividad antioxidante en los diferentes métodos de extracción.....	69

Índice de figuras

Figura 1. Estructura botánica del betabel.....	5
Figura 2. Cultivo de betabel a nivel nacional.....	6
Figura 3. Implosión de burbujas generada por ultrasonido	12
Figura 4. Diagrama del diseño metodológico (etapa 1).....	17
Figura 5. Diagrama del diseño metodológico (etapa 2).....	18
Figura 6. Diagrama del diseño metodológico (etapa 3).....	18
Figura 7. Escala de color CIE Lab, hue y chroma.	39
Figura 8. Efecto del ultrasonido sobre la coordenada b^* (a) y <i>Chroma</i> (b) del residuo de betabel.....	41
Figura 9. Efecto del ultrasonido sobre la viscosidad (a), la capacidad de retención de agua (b) y lípidos (c) del residuo de betabel.....	45
Figura 10. Efecto del ultrasonido sobre las betaninas (a) y betaxantinas (b) del residuo de betabel.....	48
Figura 11. Efecto del ultrasonido sobre el contenido fenólico total del residuo de betabel.	49
Figura 12. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de ABTS•+.	52
Figura 13. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de DPPH•.....	53
Figura 14. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de FRAP.	54
Figura 15. Efecto del ultrasonido sobre el porcentaje de actividad quelante del residuo de betabel.....	55

Figura 16. Superposición de todas las respuestas en la extracción por ultrasonido del residuo de betabel.....	56
Figura 17. Microscopía electrónica de barrido del residuo de betabel. a) Control 250X y b) Control 500X; c) Óptimo ultrasonicado 250X, d) Óptimo ultrasonicado 500X. ...	59
Figura 18. Recuento microbiológico de mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB) del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. (ND) No detectado. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre muestras.....	60
Figura 19. Capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de lípidos (CRL) del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre muestras.	61
Figura 20. Viscosidad del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre muestras.	62
Figura 21. Color del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre muestras.	63
Figura 22. Color superficial del residuo de betabel a) control y b) óptimo ultrasonicado.....	63
Figura 23. Compuestos antioxidantes de betaninas (a), betaxantinas (b) y contenido fenólico total (c) del residuo de betabel en la muestra control y el óptimo ultrasonicado antes y después del proceso de bioaccesibilidad. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre las muestras.....	65
Figura 24. Actividad antioxidante por ABTS (a), DPPH (b), FRAP (c) y quelante (d) del residuo de betabel en la muestra control y el óptimo ultrasonicado antes y después del proceso de bioaccesibilidad. * Indica diferencia significativa ($p<0.05$) entre las muestras.....	67

Índice de ecuaciones

Ecuación 1:Rendimiento del residuo de betabel liofilizado.....	19
Ecuación 2:Cálculo modelo polinomial.....	20
Ecuación 3:Cálculo acidez titulable	23
Ecuación 4:Cálculo porcentaje sólidos sedimentados.....	24
Ecuación 5:Cálculo de cromaticidad y ángulo <i>hue</i>	24
Ecuación 6:Cálculo de la capacidad de retención de agua o lípidos.....	25
Ecuación 7:Cálculo del contenido de betalaínas	27
Ecuación 8:Cálculo del porcentaje de actividad quelante	30

Glosario de abreviaturas

ABTS: Ácido 2,2-azino-bis-(3etil-benzotiazolin-6-sulfónico)

AOAC: Association of Official Analytical Chemist

AT: Acidez titulable

CFT: Contenido fenólico total

CRA: Capacidad de retención de agua

CRL: Capacidad de retención de lípidos

C*: Cromaticidad

DCPI: 2,6-diclorofenol-indofenol

DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo

EB: Enterobacterias

FAO: Food and Agriculture Organization

FRAP: Poder antioxidante reductor de hierro

L*: Luminosidad

OMS: Organización Mundial de la Salud

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

TPTZ: 2, 4, 6 - tri (2-piridil) -s- triazina

RSM: Response Surface Methodology

Unidades de medida

°C: Grado centígrado

cm: centímetro

cP: Centipoises

EAA: Equivalentes de ácido ascórbico

EAG: Equivalentes de ácido gálico

Efe (II): Equivalentes de hierro ferroso

ET: Equivalentes de trolox

g/g: Gramos sobre gramo

°h: Grados *Hue*

kHz: Kilohertzios

Log10: Logaritmo base 10

M: Molaridad

MA: Mesófilos aerobios

mg: Miligramos

mmol: Milimol

µL: Microlitros

µmol: Micromol

nm: Nanómetros

p/v: peso sobre volumen

rpm: Revoluciones por minuto

UFC: Unidades formadoras de colonia

UI: Unidad internacional

W: Vatio

Resumen

El betabel es buena fuente de compuestos bioactivos como flavonoides, fenoles, carotenoides y betalaínas que tienen capacidad antioxidante, los cuales son importantes en la dieta de las personas para ayudar a prevenir ciertas enfermedades cardiovasculares y aquellas causadas por la formación de radicales libres. Una gran parte de estos componentes están unidos a la parte no comestible o no digerible de los alimentos, por esta razón se busca la manera de aprovechar el residuo de betabel, aplicando una tecnología emergente como el ultrasonido, que por medio de la cavitación ayudaría a la liberación de compuestos bioactivos que se encuentren en este, además de disminuir la carga microbiológica y así poder incorporarlo a algún producto para consumo humano.

El objetivo de este estudio fue obtener el proceso óptimo de extracción por ultrasonido utilizando la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto sobre la carga microbiana, propiedades fisicoquímicas y antioxidantes en el residuo de betabel (*Beta vulgaris* L.).

Los parámetros empleados en el modelo matemático fueron amplitud (70-85%) y tiempo (5-13 min). Se llevó a cabo un análisis microbiológico, así como las determinaciones de pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, estabilidad, viscosidad, capacidad de retención de agua y lípidos, el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales y betalaínas, la capacidad antioxidante por ABTS, DPPH, FRAP y actividad quelante en el residuo de betabel.

Las pruebas que se ajustaron al modelo matemático ($R^2 \geq 0.90$), se les realizaron figuras de contorno y posteriormente su traslape para apreciar la condición óptima por ultrasonido con el programa SigmaPlot. Se utilizó la prueba *t*-student ($p < 0.05$) con la finalidad de verificar la reproducibilidad del estudio, así como también para la comparación del tratamiento óptimo con la muestra control; mientras que la comparación con los diferentes métodos de extracción (agua, etanol, agua/etanol y control) fue mediante un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y las

diferencias entre las medias (\pm desviación estándar DE) fue con una prueba de Duncan con una confiabilidad del 95% utilizando el programa SPSS.

La condición óptima de proceso obtenida fue de 77.5%/9min, obteniendo 14.91 cP de viscosidad, 12.20 g/g y 10.21 g/g en CRA y CRL, respectivamente, 1.49 en b^* , 6.33 en C^* , 496.95 mg EAG/100 g bs de fenoles, 3327.08 mg EB/100 g bs de betaninas, 2381.34 mg EI/100 g bs de betaxantinas, 1804.42 μ mol ET/100 g bs, 1619.84 μ mol ET/100 g bs, 79.81 μ mol Fe (II)/100 g bs en actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP respectivamente y 27.07% de actividad quelante. La muestra óptima ultrasonicada presentó una disminución de microorganismos comparado con el control, así como mayor viscosidad, capacidad de retención de agua y lípidos. Además, reportó porcentajes más altos de bioaccesibilidad *in vitro*, siendo ABTS y la actividad quelante los más notorios con un 96 % y 123 %, respectivamente. En cuanto a la comparación con los diferentes métodos de extracción, el ultrasonido obtuvo mayor contenido de betalainas y compuestos fenólicos, además un aumento en la actividad antioxidante a diferencia de la extracción con etanol, agua/etanol y control.

Por lo anterior, la extracción de compuestos bioactivos por medio del ultrasonido del residuo de betabel, mejora la obtención de estos y su capacidad antioxidante, asimismo incrementa las propiedades de la fibra dietética. Su consumo o adición en los alimentos mejoraría las características organolépticas y aportaría beneficios a la salud como protección contra algunas enfermedades cardiovasculares, intestinales y aquellas ligadas al estrés oxidativo.

Palabras clave: betabel, residuo, ultrasonido, extracción, antioxidantes, bioaccesibilidad *in vitro*.

Abstract

Beetroot is a good source of bioactive compounds such as flavonoids, phenols, carotenoids and betalains that have antioxidant capacity, which are important in people's diet to help prevent cardiovascular and serious diseases caused by the formation of free radicals. A large part of these components are linked to the inedible or non-digestible part of food, for this reason the way to use beetroot residue is sought, applying an emerging technology such as ultrasound, which through cavitation would help the release of bioactive compounds found in it, in addition to reducing the microbiological load and thus being able to incorporate it into a product for human consumption.

The objective of this study was to obtain the optimal process of extracting by ultrasound using the response surface methodology evaluating the microbial load, physicochemical and antioxidant properties from beetroot (*Beta vulgaris* L.)

The parameters were amplitude (70-85%) and time (5-13 min). A microbiological analysis was carried out, as well as the determinations of pH, titratable acidity, total soluble solids, stability, viscosity, water and oil retention capacity, the content of ascorbic acid, total phenols and betalains, the antioxidant capacity by ABTS, DPPH, FRAP and chelating activity.

To the tests that fit in the mathematical model ($R^2 \geq 0.90$) contour figures were made and subsequently overlapped to appreciate the optimal condition by ultrasound with the SigmaPlot program. The *t*-student test ($p < 0.05$) was used to verify the reproducibility of the study, also to compare the optimal treatment with the control sample; while comparison with the different extraction methods (water, ethanol, water/ethanol and control) was by a unidirectional analysis of variance (ANOVA) and the differences between the means (\pm standard DE deviation) was with a Duncan test with 95% reliability using the SPSS program.

The optimal process condition obtained was 77.5%/9min, obtaining 14.91 cP viscosity, 12.20 g/g and 10.21 g / g in WRC and ORC, respectively, 1.49 in b^* , 6.33 in C^* , 496.95 mg GAE/100 g DM of phenols, 3327.08 mg BE/100 g DM of betanins,

2381.34 mg IE/100 g bs of betaxanthines, 1804.42 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g DM}$, 1619.84 $\mu\text{mol TE}/100\text{ gbs}$, 79.81 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g DM}$ in antioxidant activity by ABTS, DPPH and FRAP, respectively and 27.07% of chelating activity. The optimal ultrasonic sample showed a decrease in microorganisms compared to the control, as well as higher viscosity, water and oil retention capacity. In addition, it reported higher percentages of bioaccessibility *in vitro*, with ABTS and chelating activity being the most notorious with 96% and 123%, respectively. Regarding the comparison with the different extraction methods, the ultrasound obtained a higher content of betalains and phenolic compounds, as well as an increase in antioxidant activity unlike extraction with ethanol, water/ethanol and control.

Therefore, the extraction of bioactive compounds by the application of ultrasound of the beetroot residue, improves the obtaining of these and their antioxidant capacity, also increase the properties of the dietary fiber. Its consumption or addition in food would improve organoleptic characteristics and provide health benefits as protection against some cardiovascular, intestinal diseases and those linked to oxidative stress.

Keywords: beetroot, residue, ultrasound, extraction, antioxidants, *in vitro* bioaccessibility.

1. Marco teórico

1.1 Betabel

El betabel pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, su nombre botánico es *Beta vulgaris* L. y comúnmente se le conoce como raíz de remolacha o remolacha de jardín (Méndez, Antonio y García, 2014). Es una raíz con un tallo engrosado bulboso, que constituye un órgano de almacenamiento, principalmente de azúcares y almidones, tiene una altura promedio de un metro con una textura densa y de un color rojo púrpura (Figura 1) (Shyamala, 2010; Kezi y Sumathy, 2014). Las hojas surgen de la corona del hipocótilo y varían en tamaño, forma y color. Los tallos están sucumbidos, erectos y multi ramificados, estos pueden tener flores solas o en grupos apretados de dos o tres, las cuales son hermafroditas cuentan con estambres y pistilos (Kezi y Sumathy, 2014; SAGARPA, 2016). El interior suele ser de color rojo oscuro y puede presentar en ocasiones círculos concéntricos de color blanco cuando el contenido de azúcares es bajo (Nottingham, 2004).

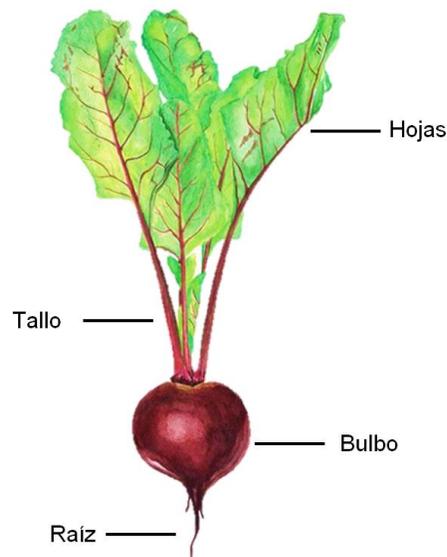


Figura 1. Estructura botánica del betabel.

1.2 Cosecha, producción y consumo de betabel

El betabel es nativo de la región mediterránea y se cultiva ampliamente en Estados Unidos, Europa y en toda la India (Yashwant, 2015). Es una raíz de climas fríos, aunque se puede cultivar en climas cálidos, pero los bulbos serán de menor calidad (SAGARPA, 2016). A nivel mundial el betabel es una de las raíces con mayor producción (277.72 millones de toneladas métricas), después de la papa, cuya producción es de 376.827 millones de toneladas métricas (FAO, 2017). En México el betabel puede cosecharse durante todo el año, a nivel nacional, en el año 2016 se registró una producción de aproximadamente 17 mil toneladas de betabel, siendo los mayores productores los estados de Puebla, Jalisco, México, Baja California, Michoacán y el principal, Sonora (Figura 2). En cuanto al estado de Hidalgo, ocupa el 12° lugar con 65 toneladas (0.36%) (SAGARPA, 2016). Por lo general, su consumo puede ser tanto en crudo como en preparaciones de ensaladas y jugos frescos (Juszczak *et al.*, 2010).



Figura 2. Cultivo de betabel a nivel nacional.

1.3 Valor agregado del betabel

La aplicación de betabel en los alimentos ha sido indagada por varios investigadores e industrias debido al efecto predominante de su color, sabor y valor nutricional. El residuo de betabel puede ser considerado como un reemplazo de colorantes sintéticos y convertirse en una herramienta de marketing en la industria alimentaria (Slavov *et al.*, 2013). El término residuo se refiere a los desechos de alimentos que podrían ser utilizables (Sánchez-Zapata *et al.*, 2009). Normalmente se utiliza en forma de polvo o se extraen los pigmentos de este para potenciar el color rojo de las pastas de tomate, sopas, salsas, postres, mermeladas, jaleas, dulces, helados y cereales para el desayuno (Singh y Hathan, 2014; Sruthi *et al.*, 2014), sin tomar en cuenta los beneficios que podría aportar a la salud humana por su alto contenido de fitoquímicos como los polifenoles, carotenoides, vitaminas y fibra dietética, además de brindar una oportunidad para desarrollar diferentes alimentos funcionales (Chhikara *et al.*, 2019; Slavov *et al.*, 2013).

1.4 Composición nutricional y compuestos bioactivos del betabel

El betabel es considerado como una fuente de carbohidratos, proteínas, vitaminas (A, C y B9) y minerales, como fósforo, potasio, calcio, sodio, cobre, zinc, manganeso, magnesio y hierro (Nottingham, 2004) (Tabla 1). También es buena fuente de compuestos bioactivos como flavonoides, fenoles, carotenoides y sus pigmentos naturales que son las betalaínas, las cuales se dividen en betaninas (rojo violeta) y betaxantinas (amarillo naranja) (Ruberto *et al.*, 2007). La capacidad antioxidante del betabel se asocia a estos pigmentos (Czapski *et al.*, 2009), ya que presenta una capacidad de captación de radicales libres alta (Gandía-Herrero *et al.*, 2012). Los radicales libres son moléculas, con átomos que tienen un electrón en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos recorren el organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de las células del cuerpo, además, pueden dañar biomoléculas tales como lípidos, ácidos nucleicos

y proteínas, causando peroxidación en las membranas celulares (Gutiérrez *et al.*, 2007; Leopoldini *et al.*, 2011).

Tabla 1. Valor nutricional del betabel en fresco y residuo de betabel (g/100 g).

Betabel en fresco		Residuo de betabel (bs)	
Componentes	Cantidad	Componentes	Cantidad
Humedad (%)	87.4	Humedad (%)	7.45
Carbohidratos	9.6	Carbohidratos	11.97
Azúcares	6.8	-	-
Fibra dietética	2.8	Fibra dietética	61
Grasa	0.18	-	-
Proteína	1.68	Proteína	13.23
Ceniza	1.40	Ceniza	6.18
Sodio (mg)	77	-	-
Potasio (mg)	305	-	-
Calcio (mg)	16	Calcio (mg)	2.05
Fósforo (mg)	38	Fósforo (mg)	2.06
Hierro (mg)	0.80	Hierro (mg)	3.60
Magnesio (mg)	23	-	-
Folato (µg)	80	-	-
Vitamina A (µg)	2	-	-
Vitamina C (mg)	3.60	Vitamina C (mg)	3.60
Niacina (mg)	0.33	-	-
Ácido pantoténico (mg)	0.14	-	-

Fuente modificada de Kale *et al.*, 2018; USDA, 2018; Shyamala y Jamuna, 2010.

Por otro lado, los antioxidantes son sustancias que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y de algunas enfermedades degenerativas como cáncer, obesidad, diabetes, entre otras (Avello, 2006). Dentro de ellos se puede encontrar vitaminas como la A, C y E, y otro grupo de antioxidantes no considerados como nutrientes llamados compuestos fenólicos, como las isoflavonas, los flavonoides y los polifenoles (Thompson *et al.*, 2008; Vali *et al.*, 2007). Es importante mencionar que gran parte de estos compuestos bioactivos están asociados a la fibra dietética (Sáyago y Goñi, 2010). La Asociación Americana de Química de Cereales (AACC por sus siglas en inglés) (2001) define a la fibra como la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. Existen 2 tipos: la fibra soluble, que sería la fracción fermentable (pectinas, mucílagos, inulina y almidón), y la insoluble, que no es fermentable y es excretada prácticamente íntegra en las heces (hemicelulosas, celulosas y lignina) (García, 2003). Una dieta rica en fibra promueve efectos beneficiosos fisiológicos, como protección contra la obesidad (Kyrø *et al.*, 2011), disminuye el riesgo de contraer ciertas enfermedades como diabetes tipo 2 (Pan *et al.*, 2010), enfermedades cardiovasculares (Mellen *et al.*, 2008) y ciertos tipos de cáncer en el tracto digestivo (Fardet, 2013). Estos efectos están relacionados con las propiedades funcionales de la fibra, las cuales son determinadas generalmente *in vitro* y sirven para dar una idea de su comportamiento *in vivo* (Valencia y Román, 2009). Algunas de estas propiedades son la capacidad de retención de lípidos (CRL) y la capacidad de retención de agua (CRA), excreción de esteroides y ácidos biliares, favorecimiento del peristaltismo, sensación de saciedad, retraso en la absorción de glucosa, mantenimiento y desarrollo de la microbiota intestinal, aminora el tiempo de contacto de las sustancias cancerígenas con las paredes del intestino, entre otras (Montes e Islán, 2007; Chau *et al.*, 2003). La Organización Mundial de la Salud y la Organización de Alimentos y Agricultura (WHO/FAO por sus siglas en inglés) (2003), refieren que la recomendación para la ingesta de fibra dietética en adultos a nivel mundial es mayor a 25 g al día. Los residuos vegetales al ser mayormente compuestos por fibra, contienen abundantes

compuestos fenólicos, pigmentos y vitaminas (Ruberto *et al.*, 2007) que cuentan con propiedades antioxidantes, antipiréticas, antibacterianas, desintoxicantes, diuréticas, antiinflamatorias, antianémicas y hepatoprotectoras (Hobbs *et al.*, 2013; Lidder y Webb, 2013), además de que imparten un efecto protector en enfermedades no transmisibles como diabetes, hipertensión y cáncer; así como, en las enfermedades cardiovasculares (Chhikara *et al.*, 2019). Con la finalidad de aprovechar la mayor cantidad de compuestos, se han desarrollado diversas técnicas de extracción para el aislamiento de compuestos antioxidantes (Merken y Beecher, 2000).

1.5 Métodos de extracción de compuestos bioactivos

La búsqueda por desarrollar métodos de extracción de compuestos bioactivos de mayor eficiencia sigue en crecimiento, ya que es un paso muy importante para el aislamiento e identificación de estos componentes (Zafra, 2016). No hay ningún método de extracción estándar; para la extracción de compuestos fenólicos la mayoría de los estudios se centran en la extracción a partir de derivados de plantas, incluyendo frutas, verduras, vinos, café, té hierbas, cereales y leguminosas (Balasundram *et al.*, 2006; Luthria y Pastor-Corrales, 2006; Naczki y Shahidi, 2006), los cuales son sometidos a trituración, secado, liofilización o sólo por remojo para posteriormente llevar a cabo la extracción (Merken y Beecher, 2000). Algunos métodos convencionales que se aplican son el calentamiento, ebullición, reflujo, y las más utilizadas a través de solventes (Li *et al.*, 2005; Baydar *et al.*, 2004; Bleve *et al.*, 2008). Los disolventes que mayormente se utilizan son metanol, agua, acetato de etilo, éter de petróleo y etanol (Amr y Al-Tamimi, 2007; Cheung *et al.*, 2003). Por lo general el primer paso del procedimiento implica el uso de un solvente orgánico para extraer los ácidos fenólicos solubles (libres, ésteres solubles y glucósidos solubles) (Russell *et al.*, 2008), en segundo lugar, se realiza una hidrólisis alcalina o ácida, ya que los ácidos forman complejos insolubles que están acoplados a polímeros de la pared celular a través de enlaces glucosídicos y éster (Mattila y Kumpulainen, 2002). Las desventajas de aplicar estos tipos de extracción son la pérdida de compuestos bioactivos debido a la ionización, hidrólisis y la oxidación, así como las altas

temperaturas y el prolongado tiempo de aplicación (Li *et al.*, 2005). Se han desarrollado diversas tecnologías emergentes, las cuales son de importancia en la industria alimentaria puesto que permiten mejorar las características de los productos, además de que son más respetuosas con el medio ambiente; entre ellos están la extracción asistida por microondas, la extracción de alta presión hidrostática (HHP), el fluido supercrítico y la extracción por ultrasonido (Wang y Weller, 2006; Molina *et al.*, 2001). Esta última es una alternativa simple y eficiente en comparación con otras (Jing y Giusti, 2005).

1.5.1 Ultrasonido

El ultrasonido tiene varias aplicaciones en la industria del procesamiento de productos como la inactivación de microorganismos dada por el daño cavitacional en las membranas de las células microbianas, el cambio en la viscosidad por la modificación estructural a través de la vibración y en la fermentación mejora la transferencia de sustrato y los procesos enzimáticos (Patist y Bates, 2008). Se puede definir como ondas acústicas inaudibles u ondas de presión de una frecuencia igual o superior a 20 kHz y su aplicación puede ser acoplado a un dispositivo, sumergido en un baño o de manera directa (Mason *et al.*, 2005; Chemat *et al.*, 2011). De acuerdo a la frecuencia empleada, el ultrasonido puede ser dividido en dos:

- Ultrasonido de baja frecuencia/alta energía, en el rango de los KHz (16 – 100kHz). Utilizado en la industria alimentaria para la conservación de alimentos, ya que pueden alterar las propiedades fisicoquímicas o la estructura de un material, produciendo reacciones químicas (Chemat *et al.*, 2011; Kentish y Feng, 2014).
- Ultrasonido de alta frecuencia/baja energía. Este se utiliza normalmente para aplicaciones analíticas, como la determinación de la composición, estructura, y estado físico: ultrasonido de diagnóstico (16 - 100 MHz) y ecografía de diagnóstico (1 - 10 MHz) (Chemat *et al.*, 2011; Kentish y Feng, 2014).

Así, el ultrasonido de baja frecuencia y alta energía genera el fenómeno de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido (Figura 3). La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente (Zheng y Sun, 2006). La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada; así como, el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno (Herrero, 2006). Para la extracción mediante ultrasonido, se han desarrollado varias técnicas, una de ellas consiste en la exposición del material a ondas acústicas de una frecuencia determinada (González *et al.*, 2009), además se toman en cuenta algunos parámetros, como la concentración del disolvente, la relación de líquido a sólido, la temperatura de extracción y tiempo de extracción (Zou *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2013). El proceso de ultrasonido garantiza un contacto íntimo de la matriz de la muestra con la extracción del disolvente y se utiliza a menudo para mejorar la extracción de lípidos, proteínas y compuestos fenólicos de las plantas (Ignat *et al.*, 2011).

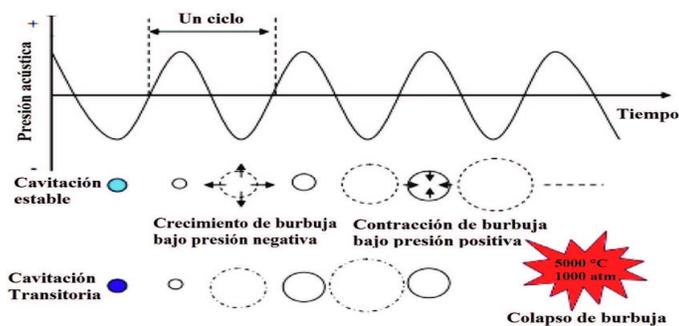


Figura 3. Implosión de burbujas generada por ultrasonido

1.5.2 Extracción de compuestos en residuos por ultrasonido

Se han hecho estudios sobre la extracción por ultrasonido en residuos de algunos alimentos, en donde han exhibido actividad antimicrobiana y antioxidante, dado a que el tratamiento permite la liberación de compuestos antioxidantes como polifenoles y pigmentos como betalaínas o antocianinas, pudiéndose aprovechar como subproductos o aditivos alimentarios (Liu *et al.*, 2009; Medina-Meza y Barbosa-Cánovas, 2015). Por ejemplo, en un residuo de mango se extrajo la mayor cantidad de fenoles y ácido ascórbico, en tuna morada se incrementó la capacidad de retención de lípidos; en residuo de zarzamora, cáscara de granada y de manzana, la actividad antioxidante por ABTS y DPPH aumentó; en hollejo de uva el contenido de antocianinas y fenoles se acrecentaron a diferencia de una extracción con solvente; y en pulpa de tomate se elevó el valor del licopeno presente (Neria, 2015; Manzur, 2017; Zafra, 2015, Anese *et al.*, 2015; Medina y Barbosa, 2015; Ma *et al.*, 2008; Sharayei *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2015). Debido a esto se han realizado investigaciones en donde se busca la condición óptima de proceso, con la finalidad de obtener una mejor extracción y evitar pérdidas de elementos de importancia nutrimental (Walking-Ribeiro *et al.*, 2009; Zafra-Rojas *et al.*, 2013), tal es el caso de lípidos proveniente de semillas de tuna, donde se encontró que la mejor actividad antioxidante se daba a una amplitud de 78 % en un tiempo de 10 minutos (Ortega-Ortega *et al.*, 2017). Esto abre la posibilidad de que el ultrasonido se considere como una tecnología alternativa dentro de la industria alimentaria y que los productos derivados sean una opción de consumo en la población (Lee *et al.*, 2010).

2. Problema de Investigación

El betabel es una raíz que se cosecha durante todo el año y es reconocido por sus propiedades sensoriales, gracias a su contenido de azúcares, aromas y pigmentos que lo hacen atractivo sensorialmente. La producción en México es elevada (17 mil toneladas), sin embargo, por la falta de conocimiento sobre sus propiedades y beneficios a la salud que tiene por su contenido de fibra y compuestos bioactivos, su consumo es bajo. En cuanto a las diferentes técnicas de extracción de compuestos, la mayoría son métodos que utilizan una gran cantidad de disolventes y de larga duración, lo cual representa una gran pérdida de reactivos, además de que exhibe una disminución en la extracción de compuestos. Actualmente no existen estudios sobre la aplicación del ultrasonido en el residuo de betabel donde se evaluó la carga microbiana, las propiedades fisicoquímicas, el contenido y actividad antioxidante, así como su absorción intestinal.

3. Justificación

De acuerdo con diferentes estudios, el residuo de betabel contiene compuestos bioactivos y fibra dietética. Su utilización fomentaría la adición de residuos a alimentos o producción de bebidas a base del extracto de estos, los cuales podrían ser aprovechados por su capacidad antioxidante y contribuirían a la prevención de enfermedades no transmisibles ligadas al estrés oxidativo; además de aquellas que puedan tratarse a partir de las propiedades funcionales de la fibra. El uso de una tecnología emergente como lo es el ultrasonido, facilitaría el proceso de extracción disminuyendo el uso de solventes, maximizando la liberación de compuestos en menor tiempo y disminuyendo la carga microbiana. Este estudio podría dar la pauta a futuras investigaciones sobre la aplicación del residuo de betabel para la prevención o tratamiento de ciertas enfermedades como diabetes, cáncer, obesidad, hipertensión, entre otras.

4. Objetivos

4.1 General

Obtener el proceso óptimo de extracción por ultrasonido utilizando la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto sobre la carga microbiana, propiedades fisicoquímicas y antioxidantes en el residuo de betabel (*Beta vulgaris* L.).

4.2 Específicos

- Obtener diferentes tratamientos por ultrasonido para determinar la carga microbiana (mesófilos aerobios y enterobacterias), propiedades fisicoquímicas (pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, estabilidad, color, viscosidad, capacidad de retención de agua y de lípidos), contenido de compuestos bioactivos (betalaínas, fenoles totales, ácido ascórbico) y actividad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y quelante), con el fin de hallar la condición óptima de extracción por ultrasonido para realizar la reproducibilidad del estudio.
- Analizar la estructura del residuo optimizado por ultrasonido mediante microscopía electrónica de barrido a fin de conocer el efecto que produce la aplicación de esta tecnología, y comparar la carga microbiana, propiedades fisicoquímicas y su bioaccesibilidad intestinal *in vitro* con una muestra control.
- Evaluar el contenido de betalaínas, fenoles totales y la actividad antioxidante del extracto optimizado por medio de espectrofotometría para compararlo con diferentes tipos de extracciones (agua, etanol y agua/etanol) y una muestra control.

5. Diseño metodológico

A continuación se muestran 3 figuras que describen cada etapa de la metodología empleada para este estudio; etapa 1 (Proceso de optimización), se realizaron 13 tratamientos arrojados por la metodología de superficie de respuesta para obtener una condición óptima a través de las figuras de contorno y poder realizar la reproducibilidad de los valores predichos con los experimentales (Figura 4); etapa 2 (Comparación del tratamiento óptimo con una muestra control), se comparó el efecto que tiene la aplicación de ultrasonido en el residuo optimizado mediante el uso de microscopía electrónica de barrido, así como la carga microbiológica, propiedades fisicoquímicas y bioaccesibilidad *in vitro* con una muestra control (Figura 5) y etapa 3 (Comparación de diferentes métodos de extracción) (Figura 6), se evaluó el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en diferentes métodos de extracción (ultrasonido, agua, etanol, agua/etanol y un control).

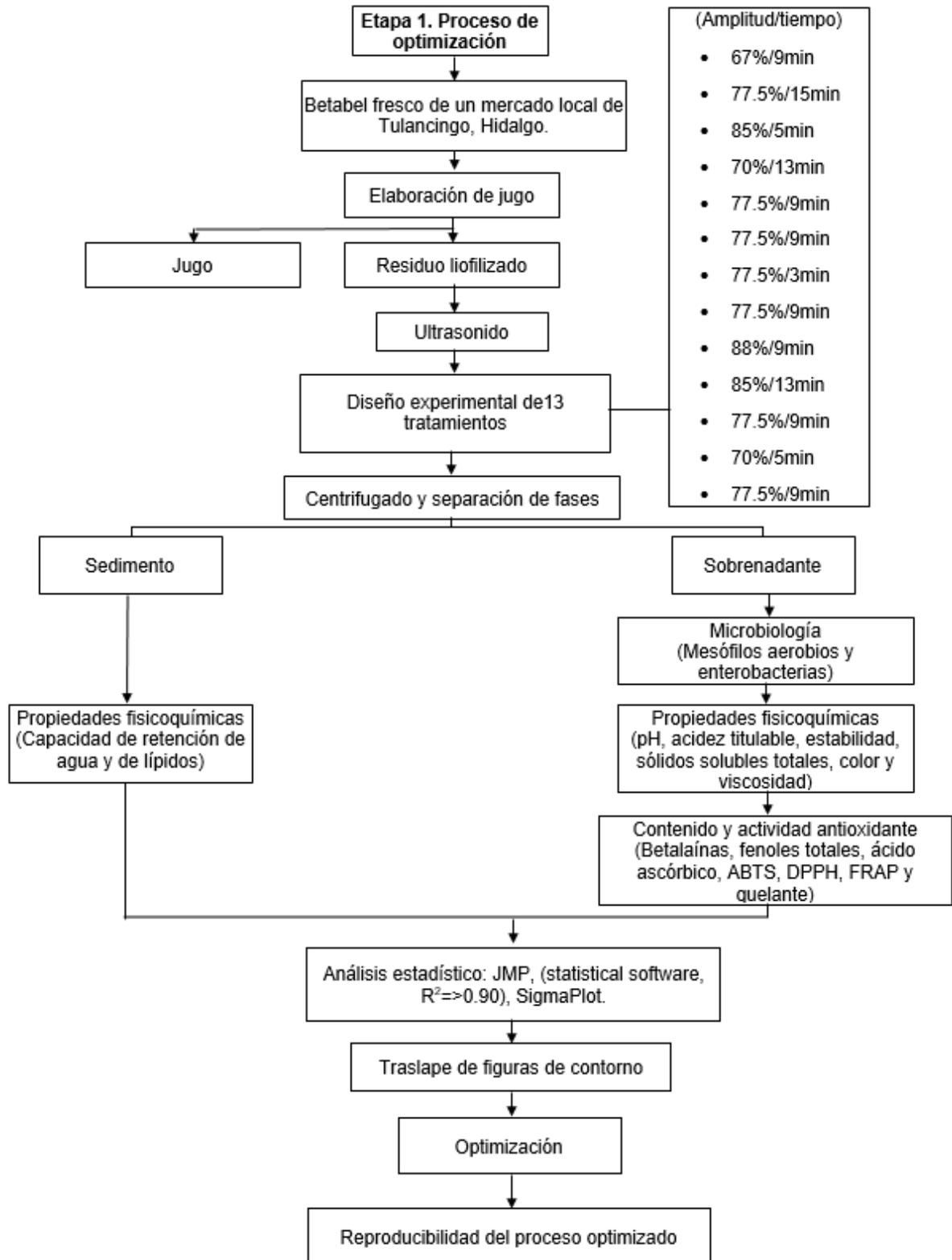


Figura 4. Diagrama del diseño metodológico (etapa 1).

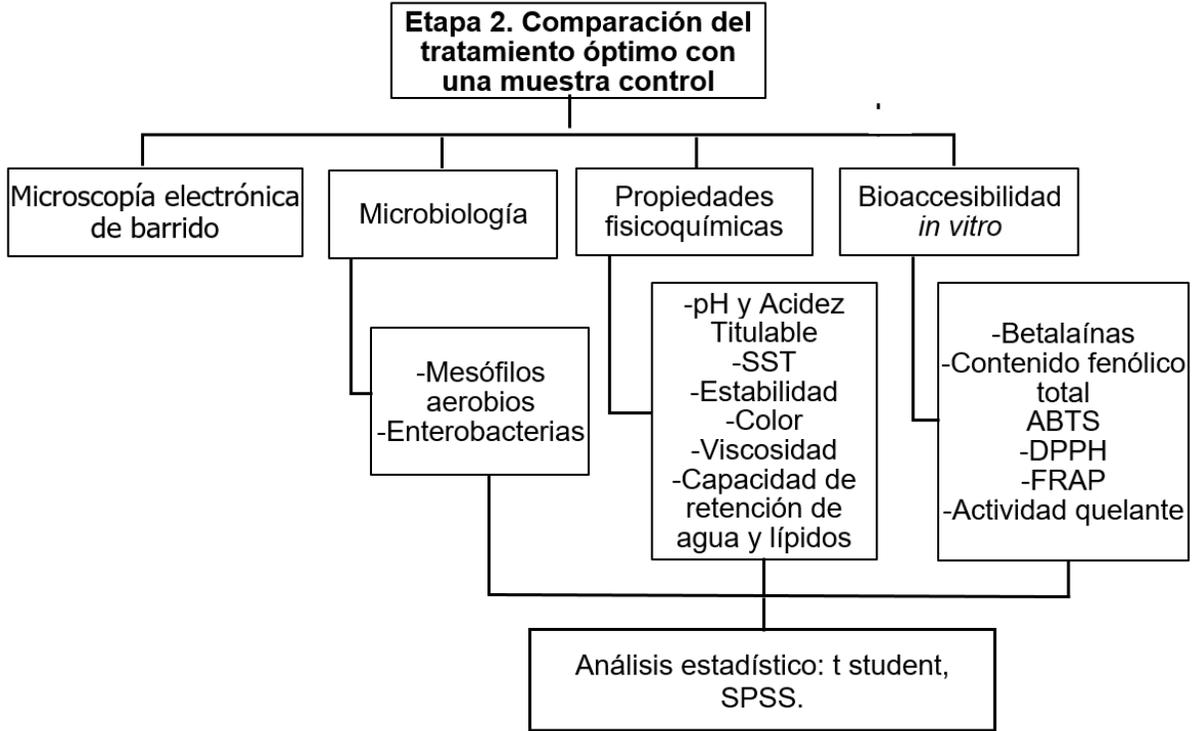


Figura 5. Diagrama del diseño metodológico (etapa 2).

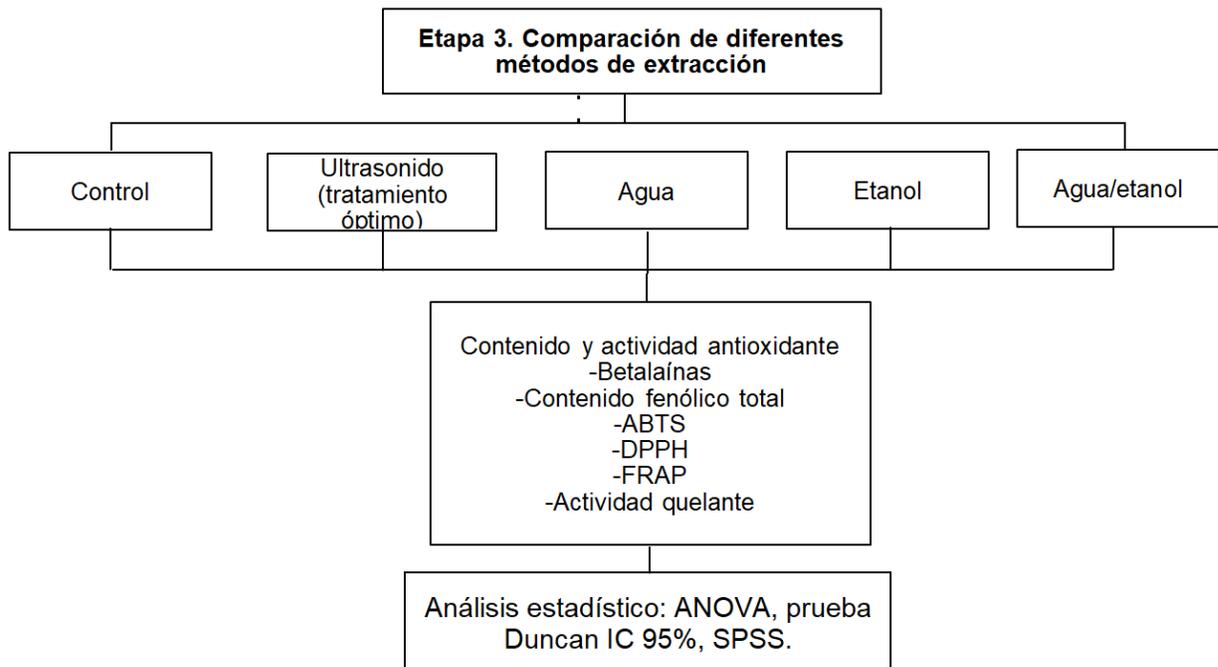


Figura 6. Diagrama del diseño metodológico (etapa 3).

5.1 Obtención del residuo de betabel

La muestra de betabel (proveniente del estado de Puebla) se obtuvo de un mercado local en Tulancingo, Hidalgo, México. Se lavaron y pelaron manualmente y posteriormente se extrajo su jugo (Standard, Turmix®, México) separando el residuo del resto de los componentes; el residuo se liofilizó (VWR 26671-581 Labconco, USA), molió en un triturador (Blender, 38BL52, LBC10, Waring Comercial, USA) y tamizó a un tamaño de partícula de 500 µm. Por último, se almacenó en congelación a -33 °C (So-Low, 2-8254, USA) para su posterior análisis.

5.2 Rendimiento

El rendimiento del residuo de betabel liofilizado obtenido se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación (Ecuación1):

$$\% \text{ residuo liofilizado} = \left(\frac{M_1}{M_2} \right) \times 100$$

Dónde:

M_1 = Peso del residuo liofilizado (g)

M_2 = Peso del residuo fresco

5.3 Tratamiento de ultrasonido

Se preparó una solución al 4% (p/v) del residuo de betabel liofilizado y agua potable. Se utilizaron 400 mL llevándolos a un procesador de ultrasonido (VCX -1500, Sonics and Materials, Inc. Newtown, CT, USA) con una potencia de 1500W y una frecuencia constante de 20 kHz y tiempos de impulso de onda de 2 segundos de encendido y 4 segundos de apagado. Los parámetros de amplitud empleados fueron de 70-85% y tiempos de 5-13 min. Una muestra sin tratamiento fue utilizada para compararlo con el proceso óptimo de ultrasonido.

5.3.1 Diseño experimental

Para el diseño experimental se empleó 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) por medio del programa JMP® 5.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Las variables independientes fueron el porcentaje de amplitud de 70-85% (X_1 , %) y tiempo de 8-13 min (X_2 , min), quienes fueron seleccionados en base a los valores obtenidos en experimentos preliminares. Los valores codificados de las variables independientes serán $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$. El diseño arrojó 13 tratamientos (Tabla 2), de los cuales 5 fueron los 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 fueron sometidos a análisis de regresión lineal múltiple, ajustándose a un modelo polinomial de segundo orden, dado en la siguiente ecuación (Ecuación 2):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_i \sum_{j=i+1} \beta_{ij} X_i X_j$$

Dónde:

Y = respuesta prevista

β_0 = coeficiente constante

β_i = coeficiente lineal

β_{ij} = de interacción

β_{ii} = coeficiente cuadrático

X_i y X_j = variables independientes

Tabla 2. Diseño experimental.

Tratamiento	Modelo	X ₁ : Amplitud (%)	X ₂ : Tiempo (min)
1	a0	87	9
2	0A	77.5	15
3	+-	85	5
4	--	70	13
5*	00	77.5	9
6*	00	77.5	9
7	0a	77.5	3
8*	00	77.5	9
9	A0	88	9
10	++	85	13
11*	00	77.5	9
12	--	70	5
13	00	77.5	9

*Puntos centrales

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

5.4 Separación de fases

En la muestra ultrasonicada, una parte se ocupó para el análisis microbiológico y las propiedades fisicoquímicas, otra parte fue centrifugada (Allegra 25R TM, Beckman Coulter; CA, USA) a 10000 rpm durante 25 minutos a 4 °C con el fin de separar el sedimento, el cual fue liofilizado para evaluar las propiedades funcionales de la fibra; y el sobrenadante, para determinar el contenido y actividad antioxidante.

5.5 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico es un procedimiento mediante el cual se determinó la calidad sanitaria e higiénica de la materia prima (Pascual y Calderón, 2000). Se realizó mediante la técnica de vaciado en placa descrita por Cruz *et al.*, (2007), se prepararon diluciones decimales en una solución de agua de peptona. El recuento de mesófilos aerobios se determinó utilizando agar para métodos estándar (PCA) con una incubación de 48 horas a 30°C (LSI-3016a, Labtech, Korea). El recuento de enterobacterias (EB) fue en un medio de glucosa biliar rojo violeta (VRBG) incubado a 37 °C por 24 horas. Los resultados fueron expresados como logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonias por mililitro (\log^{10} UFC/mL) de muestra.

5.6 Propiedades fisicoquímicas

5.6.1 pH

El pH corresponde al logaritmo negativo (base 10) de la concentración de iones hidronio presentes en la muestra (Briones-Rodríguez *et al.*, 2005). Para la medición de las muestras se utilizó un potenciómetro digital (HANNA Instruments, pH 210, USA).

5.6.2 Acidez titulable

La acidez titulable es representada por los ácidos orgánicos libres y se mide con su neutralización a partir de una solución base. Se determinó por el método de la AOAC (1999); se colocó 1 mL de residuo aforado a 10 mL con agua destilada en un matraz Erlenmeyer, se utilizaron 3 gotas del indicador fenolftaleína (pH 8.2) y se homogeneizó; se tituló con NaOH 0.01 N (Sigma Aldrich, Dublín, Irlanda) hasta observar un cambio de color a rosa intenso. Se registraron los mililitros gastados de NaOH. La acidez titulable se reportó como porcentaje de ácido cítrico con la siguiente ecuación (Ecuación 3):

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{(V \times N \times 0.064)}{M} \times 100$$

Dónde:

V = mL de NaOH gastados.

N = Normalidad del NaOH (0.01).

0.064= constante

M = volumen de la muestra en mL

5.6.3 Sólidos solubles totales

Los sólidos solubles hacen referencia a los azúcares contenidos en la muestra, estos se midieron usando un refractómetro (Trading Co. Brix/ATC FG-113, Hangzhou Chican Trading Co., Ltd., China) expresados como °Brix. El refractómetro se limpió antes de cada medición con agua destilada y algodón (Rojas y Andres, 2000).

5.6.4 Estabilidad

El índice de estabilidad se valora determinando el porcentaje de sólidos sedimentados (%SS) después de la centrifugación. Se centrifugaron 10 mL del residuo de betabel en un tubo de ensayo de 15 mL (Hamilton Bell, V6500, USA) a 3000 rpm durante 30 minutos, posteriormente se decantó el sobrenadante y se registró el peso del tubo (Zafra *et al.*, 2013). Los resultados se expresaron como el porcentaje de estabilidad con la siguiente ecuación (Ecuación 4):

$$\% SS = (Tubo\ 2 - Tubo\ 1) \times 100$$

Dónde:

%SS= porcentaje de sólidos sedimentados

Tubo 1= peso del tubo vacío

Tubo 2= peso del tubo con muestra

5.6.5 Determinación de color

Para la evaluación de color se colocaron alícuotas de las muestras en recipientes con 3 mL cada uno. Se utilizó un colorímetro portátil (Minolta CM-80, 500 SM-508D, Japón) que dirige un haz de luz paralela monocromática a través de una muestra líquida y mide la intensidad del haz luminoso emergente. Se registraron tres coordenadas de color: L^* define la intensidad lumínica es decir que tan claro u oscuro es (100=blanco y 0=negro), la coordenada a^* que representa rojo ($+a^*$) y verde ($-a^*$), la coordenada b^* que indica la diferencia de amarillo ($+b^*$) y azul ($-b^*$), (Francis, 1980). El cálculo de croma que indica la saturación es decir qué tan llamativo o apagado es su color y hue que define el matiz-tonalidad. Para determinar cromaticidad (C^*) y tonalidad ($^{\circ}h$) se utilizaron los valores de los ejes a^* y b^* (Arias, Ospino y Zapata, 2018), y se calculó con la siguiente ecuación (Ecuación 5):

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} h^{\circ} = \tan^{-1}\left(\frac{b^{*}}{a^{*}}\right)$$

5.6.6 Viscosidad

La viscosidad, definida como la resistencia derivada de la falta de deslizamiento de los compuestos físicos, proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él (Pérez-Trejo *et al.*, 2010). Se utilizó el método empleado por Díaz *et al* (2004) con un viscosímetro (Broockfield, DV3T, USA), con una aguja LV-1 a 60 rpm, los resultados fueron expresados en centipoises (cP).

5.6.7 Capacidad de retención de agua y lípidos

La capacidad de retención de agua (CRA) y lípidos (CRL) son la habilidad de los alimentos de conservar agua o aceite en condiciones específicas de temperatura, duración y velocidad de centrifugación (Mudgil y Barak, 2013). Se midieron por el método de centrifugación, descrito por Lajolo y Wensel (1998) y Robertson *et al.*, (2000). En tubos de centrífuga de 15 mL se pesaron 250 mg de muestra y se añadieron 10 mL de agua destilada o de aceite vegetal (soya) y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 24 horas. Después se centrifugaron (Hamilton Beach HealthSmart, V65000, USA) a 3000 rpm por 20 minutos. El sobrenadante fue decantado y se pesó el tubo con el precipitado para conocer la cantidad de agua o lípidos que absorbió el residuo. La CRA fue reportada como gramos de agua/gramos de muestra seca y para CRL como gramos de lípidos/gramos de muestra seca y se calcularon con la siguiente ecuación (Ecuación 6):

$$\text{Capacidad de retención de agua o lípidos (g/g)} = T2 - T1 - \left(\frac{M}{1000}\right) \times 4$$

Dónde:

T1= peso del tubo vacío

T2= peso del tubo después de las 24 horas

M= peso de la muestra

5.7 Métodos de extracción de compuestos bioactivos

Una vez obtenida la condición óptima de ultrasonido se realizaron otros tres tipos de extracciones convencionales junto con una muestra sin tratamiento (control) para establecer comparaciones entre ellas.

5.7.1 Extracción por ultrasonido

Como se mencionó anteriormente en el apartado 5.5 (Separación de fases), para determinar los compuestos y actividad antioxidante del residuo de betabel, se ocupó el sobrenadante de la suspensión ultrasonificada del tratamiento óptimo.

5.7.2 Extracción con agua o etanol

La extracción se realizó de acuerdo a la metodología de Vulic *et al.*, (2011). A la muestra liofilizada (20 g) se le hicieron 3 lavados con agua desionizada o etanol (60 min-160 mL, 30 min-80 mL, 30 min-80 mL) con un homogenizador (HS-50A, Wisestir®, Wisd, laboratory instruments, USA). Después de cada tiempo, la muestra fue centrifugada (Allegra 25R™, Beckman Coulter; CA, USA) a 10000 rpm por 30 min a temperatura ambiente.

5.7.3 Extracción agua/etanol

Para la extracción por maceración se utilizó metodología de Ravichandran *et al.*, (2011) con algunas modificaciones. Se tomó 1 g de muestra y se adicionó 100 mL de una disolución de etanol-agua (50:50 v/v). Posteriormente se centrifugó (Allegra 25R™, Beckman Coulter; CA, USA) a 6000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. Este paso se realizó dos veces más y se recolectó el sobrenadante de cada centrifugación.

5.8 Determinación de compuestos antioxidantes

5.8.1 Betalaínas

Para la cuantificación de betaxantinas y betaninas en los extractos se determinaron según Stintzing *et al.*, (2005) con una lectura a 538 nm y 480 nm, respectivamente en un 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 y el contenido de betalaínas (CB) se calculó con la siguiente ecuación (Ecuación 7):

$$CB \text{ mg/L} = \{(A \times FD \times PM \times 1000)/(\varepsilon * I)\}$$

Dónde:

A = Absorbancia a 535 o 480 nm

FD = Factor de dilución

I = Volumen de celda (0.316 cm³)

Para la cuantificación de betaninas y betaxantinas, se aplicaron los pesos moleculares (PM) y los coeficientes de extinción molar (ε), los cuales son 550 g/mol; 60,000 L/mol cm en H₂O y 308 g/mol; 48,000 L/mol cm en H₂O, respectivamente. Los resultados de betaninas se reportaron como miligramos equivalentes de betaninas

por 100 gramos de base seca (mg EB/100 g bs) y betaxantinas como miligramos equivalentes de indicaxantinas por 100 gramos de base seca (EI/100 g bs).

5.8.2 Fenoles totales

Se utilizó la metodología descrita por Stintzing *et al.*, (2005), basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngtico (Peterson, 1979). Se preparó una solución de Folin-Ciocalteu (0.2 N) 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 elaboró 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 y se adicionó 500 µL de solución de Folin y 400 µL de solución de carbonato de sodio, se homogeneizaron y dejaron reposar por 30 min, posteriormente se llevó a un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) y los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de base seca (mg EAG/100 g bs).

5.8.3 Ácido ascórbico

Se determinó la cantidad de ácido ascórbico de acuerdo con Dürüst *et al.* (1997), el cual utiliza el reactivo 2,6-diclorofenolindofenol (DCPI) que tiene una coloración azul-violeta y al entrar en contacto con el ácido ascórbico (AA) cambia de color a rosa 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 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 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 UVBiotek, 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 g de base seca (mg EAA/100 g bs).

5.9 Determinación de actividad antioxidante

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

El ABTS es un radical libre que reacciona con compuestos hidrófilos y lipófilos, su actividad está fundamentada en su decoloración ante un agente antioxidante (Quintanar y Calderón, 2009). La metodología empleada fue de acuerdo a Kuskosky *et al.* (2002). 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 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, mediante una dilución en agua destilada se obtuvo una lectura de absorbancia de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se elaboró una curva estándar en concentraciones 0, 60, 120, 180, 240 y 300 μ mol/L con una solución de Trolox (3.75 mg en 50 mL de etanol). Se tomaron 100 μ L de muestra y 900 μ L de ABTS, se dejó reposar por 7 min y se hizo la lectura en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) utilizando como blanco Trolox y se expresó como miligramos equivalentes de Trolox por 100 g de base seca (mg ET/100 g bs).

5.9.2 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 520 nm

(Chávez, 2002). Se determinó según la metodología reportada por Morales y Jiménez-Pérez (2001). 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 $\mu\text{mol ET/L}$, posteriormente se colocaron 100 μL de muestra y 500 μL de la solución DPPH, se dejó reposar por 60 min y se llevó a cabo la lectura en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). La actividad antioxidante se expresó en micromoles equivalentes de Trolox en 100 g de base seca ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$).

5.9.3 FRAP

El poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) mide la habilidad de un compuesto antioxidante para reducir el ion férrico (Fe(III)) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe(II)), desarrollando un color azul intenso (Benzie y Strain, 1996). Se desarrolló la metodología descrita por Pérez *et al.* (2008). 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 $\mu\text{mol Fe(II)}/\text{L}$. 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 vortex y se dejaron en un baño de agua (Thermo electron corporation precision, 2837, USA) 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 milimoles de Fe(II) equivalentes en 100 g de base seca (mM $\text{EFe(II)}/100 \text{ g bs}$).

5.9.4 Actividad quelante

Característica que se determina a partir de la medición de la capacidad para generar complejos químicos ante un agente quelante, los cuales suelen ser sustancias con la

posibilidad de enlazar iones metálicos polivalentes, con lo que se genera una pérdida de la actividad biológica de los compuestos (Gutiérrez y de Cerain Salsamendi, 2001). Se determinó por el método de Güicin (2003), el cual se basa en la preparación de una solución quelante, utilizando como agente de referencia EDTA a 0.1 M, junto con muestras control de agua desionizada. Se colocaron 100 µL de muestra, 50 µL una solución de cloruro férrico y 450 µL de ferrozina, reposando 10 min. La absorbancia se midió en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) a 562 nm. Los resultados se expresaron en porcentaje a través de la siguiente ecuación (Ecuación 8):

$$\% \text{ Actividad quelante} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) * 100$$

Dónde:

A_0 = absorbancia de la muestra control

A_1 = absorbancia de la muestra

5.10 Bioaccesibilidad intestinal *in vitro*

Los modelos *in vitro* consisten en una fase inicial de simulación de digestión intraluminal, seguida por una fase de diálisis simulando la absorción intestinal. Se utilizó un modelo de digestión *in vitro*, siguiendo el método descrito por Miller *et al.* (1981) con algunas modificaciones (Ramírez-Moreno *et al.*, 2018). Se colocaron 500 mg de muestra seca en tubos de centrifuga de 50 mL, se agregaron 20 mL de agua destilada y se usó ácido HCl 6 M para ajustar el pH a 2. Después se adicionaron 120 µL de pepsina (40 mg pepsina (P-7000, Sigma Aldrich, USA) en 1 mL de HCl 0.1 M), para ser incubada en agitación a 60 rpm durante 2 horas a una temperatura de 37 °C (LSI-3016^a, Labtech, Korea). Transcurrido el tiempo se adicionaron 1.5 mL de una disolución de pancreatina, colato de sodio y desoxicolato de sodio (5 mg de pancreatina (P-1750 Sigma-Aldrich, USA), 12.5 mg de colato de sodio hidratado

(C6445, Sigma-Aldrich, USA) y 12.5 mg de desoxicolato de sodio (D6750, Sigma-Aldrich, USA) por cada 1 mL de NaHCO_3 0.1 M. Las muestras digeridas se colocaron en membranas de celulosa de bolsas de diálisis de 15 cm (tamaño de poro de 12 KDa, Sigma-Aldrich, USA) y se dializaron en una solución de NaHCO_3 a pH 7.5 por 16 horas en incubación y agitación (37°C / 60 rpm). Finalmente, la fracción bioaccesible, es decir, aquella que traspasó la membrana de diálisis se utilizó para determinar el contenido antioxidante y actividad antioxidante siguiendo las metodologías descritas anteriormente. Esta prueba se realizó con el tratamiento optimizado comparado con la muestra control.

5.11 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una técnica utilizada para analizar la morfología de partículas pequeñas de materiales sólidos de todo tipo, emitiendo una visión tridimensional de su estructura, permitiendo conocer su composición estructural (Gamiz *et al.*, 2002). Se fundamenta en el desplazamiento de un haz de electrones del microscopio sobre la superficie de la muestra, amplificando la información de esta y emitiéndola como imagen (Sorrivas *et al.*, 2014).

Esta determinación se realizó en el Instituto de la Tierra y de los Materiales de la UAEH y se utilizó un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-6300, USA) con alcance de 300,000 magnificaciones y una resolución de 30 Kv. Las muestras del residuo de betabel, tanto la muestra control como la tratada con ultrasonido bajo las condiciones óptimas, se depositaron sobre una cinta de grafito de doble cara. Después fueron recubiertas con una capa delgada de oro de 1mm en una máquina ionizadora (Denton Vacuum Desk V, Moorestown, Nueva Jersey, USA) a una presión de 20 militorr y una corriente de 20 mA durante 4 min. Este recubrimiento a presión tiene como objetivo llegar al punto de sublimación del oro, para volver conductora la muestra y así sea resistente al haz de electrones al que son sometidas dentro del microscopio.

Una vez preparadas las muestras se procedió a observarlas en el MEB a 250 y 500 ampliaciones (250X y 500X) y se tomaron micrografías para establecer la comparación estructural entre las muestras.

6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de cada determinación de los 13 tratamientos fueron sometidos a un análisis de regresión lineal 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 apreciar la condición óptima de extracción por ultrasonido con el programa SigmaPlot.

La condición óptima 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 estudio. Igualmente se empleó esta prueba para la comparación de la condición óptima con una muestra sin tratamiento (control); mientras que la comparación con los diferentes métodos de extracción (agua, etanol, agua/etanol y control) fue mediante un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y 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).

7. Resultados y discusión

7.1 Rendimiento

En la Tabla 3 se reporta el rendimiento del residuo de betabel posterior del liofilizado, consiguiendo un 21.41 %. Este resultado fue mayor a lo reportado por Schieber (2001) y Ayala-Zavala *et al.* (2010) en piel con semillas de guayaba y cáscara de mandarina liofilizadas, donde obtuvieron 12.5 y 16 % respectivamente, sin embargo, Zafra (2019) y Neria (2015) alcanzaron en un subproducto de zarzamora y pulpa de mango liofilizados un rendimiento del 42.3 y 78 % respectivamente. La disminución presentada se debió a la reducción del contenido de agua ocasionada por la separación del jugo junto a la liofilización, donde existe una baja presión generada por el vacío que favorece la evaporación de esta (McDonald, 2000; Kramer *et al.*, 2002).

Tabla 3. Rendimiento total del residuo de betabel.

Muestra	Porcentaje
Residuo	100 %
Liofilizado	21.41 %
Molido y tamizado*	90.30 %

* El porcentaje de molido y tamizado fue calculado tomando como 100% lo obtenido del liofilizado

7.2 Análisis microbiológico

Se realizó un análisis microbiológico a cada tratamiento del residuo de betabel ultrasonicado, para conocer la cantidad de microorganismos en diferentes condiciones de amplitud y tiempo aplicados, abarcando mesófilos aerobios (MA) y

enterobacterias (EB). En la Tabla 4 se muestran los resultados de la calidad microbiológica, se observó que los tratamientos de ultrasonido que exhibieron menor cantidad de mesófilos aerobios y enterobacterias fueron el de 85%/13min ($2.85 \log^{10}$ UFC/mL) y 70%/13min ($2.56 \log^{10}$ UFC/mL), teniendo una reducción respecto al control de 1.28 y $1.5 \log^{10}$ UFC/mL, respectivamente. En un estudio sobre un extracto de zarzamora se señala que la muestra al someterse a ultrasonido no presenta crecimiento de microorganismos (Zafra, 2019). La inactivación microbiana se debe a diversos mecanismos de acción como lo es la cavitación que ocurre durante el ultrasonido, que ocasiona el colapso de burbujas dentro o alrededor de las bacterias provocando un cambio en el gradiente de presión induciendo un efecto mecánico que conduce al daño celular de las bacterias (Huang *et al.*, 2016), así como a la formación de radicales libres, como es el caso del peróxido de hidrógeno, bactericida que se forma naturalmente durante la ultrasonicación y conduce al adelgazamiento de la membrana celular (Swamy *et al.*, 2018).

Tabla 4. Efecto del tratamiento por ultrasonido en microbiología

Tratamiento (%amplitud/min)	Mesófilos aerobios (log ¹⁰ UFC/mL)	Enterobacterias (log ¹⁰ UFC/mL)
Control	4.13±0.06	4.06±0.10
67%/9min	2.87±0.06	2.89±0.11
77.5%/15min	3.08±0.03	2.93±0.10
85%/5min	2.91±0.07	2.80±0.19
70%/13min	3.26±0.07	2.56±0.09
77.5%/9min	3.30±0.00	3.19±0.03
77.5%/9min	3.12±0.12	3.19±0.03
77.5%/3min	3.06±0.03	3.30±0.00
77.5%/9min	3.02±0.02	2.90±0.00
88%/9min	2.99±0.16	2.77±0.02
85%/13min	2.85±0.11	2.74±0.07
77.5%/9min	3.18±0.00	3.02±0.02
70%/5min	3.06±0.07	2.86±0.15
77.5%/9min	3.15±0.02	2.99±0.01
R^2	0.53	0.38

±: desviación estándar.

7.3 Propiedades fisicoquímicas

Para determinar las propiedades fisicoquímicas del residuo de betabel, se midió pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable y estabilidad física, los valores obtenidos se muestran en la Tabla 5. Los resultados de pH exhibieron un rango de 6.34 a 6.65, presentando un ligero incremento en relación al control (6.21) esto relacionado a que se generan nuevos compuestos químicos como nitrato, nitrito y

peróxido de hidrógeno debido a la acción del ultrasonido (Martínez-Flores *et al.*, 2015; Kruus, 2000); los valores de sólidos solubles totales y de acidez titulable fueron similares en todos los tratamientos, incluyendo la muestra control, arrojando valores de 2 y 0.34, respectivamente. No se han reportado estudios sobre estos parámetros en residuos por ultrasonido, sin embargo, estos mismos comportamientos de pH y acidez titulable se observaron en jugos ultrasonicados como pera (Saeeduddin *et al.*, 2015), naranja (Valero, 2007), cereza (Türken y Erge, 2017) y granada (Alighourchi *et al.*, 2013). El comportamiento y los compuestos presentes dependerán mucho de la matriz con la que se esté trabajando.

En cuanto al porcentaje de estabilidad no hubo grandes cambios en los tratamientos, presentando valores de entre 94.41 a 96.29% en comparación al control (96.62%), excepto por el tratamiento 70% / 5min, el cual exhibió valores de 92.37% (Tabla 5). Tampoco se han encontrado reportes sobre la estabilidad de residuos por ultrasonido, sin embargo, se han realizado estudios en jugo de durazno, y reportan que no hay cambios con respecto a su muestra control (Rojas *et al.*, 2016), mientras que en jugo de jitomate y en néctar de yaca, mencionan que el ultrasonido genera mayor índice de estabilidad (Kubo *et al.*, 2013; López y Cansino, 2015). Este incremento se puede atribuir a la reducción de la sedimentación que se ocasiona por el efecto de cavitación, provocando la fragmentación de moléculas en partículas más pequeñas (Hernández y Monter, 2017), debido al aumento de la fuerza electrostática repulsiva, en lugar de la fuerza atractiva de van der Waals, promoviendo la estabilidad de la muestra y proporcionando una mejor uniformidad (Genovese y Lozano, 2006).

Tabla 5. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre pH, sólidos solubles, acidez titulable y estabilidad

Tratamiento (%amplitud/min)	pH	°Brix	Acidez titulable	Estabilidad (%)
Control	6.21±0.00	2±0.00	0.34±0.00	96.62±0.27
67%/9min	6.37±0.01	2±0.00	0.34±0.00	96.06±0.08
77.5%/15min	6.48±0.03	2±0.00	0.34±0.00	95.77±0.27
85%/5min	6.65±0.01	2±0.00	0.34±0.00	96.48±0.09
70%/13min	6.45±0.01	2±0.00	0.34±0.00	96.29±0.33
77.5%/9min	6.43±0.02	2±0.00	0.34±0.00	95.97±0.33
77.5%/9min	6.44±0.01	2±0.00	0.34±0.00	95.83±0.22
77.5%/3min	6.37±0.03	2±0.00	0.34±0.00	95.92±0.29
77.5%/9min	6.34±0.02	2±0.00	0.34±0.00	94.41±0.06
88%/9min	6.39±0.01	2±0.00	0.34±0.00	96.75±0.14
85%/13min	6.39±0.02	2±0.00	0.34±0.00	95.37±0.50
77.5%/9min	6.41±0.01	2±0.00	0.34±0.00	95.82±0.24
70%/5min	6.45±0.00	2±0.00	0.34±0.00	92.37±0.27
77.5%/9min	6.42±0.01	2±0.00	0.34±0.00	95.88±0.39
R^2	0.43	-	-	0.64

±: desviación estándar

7.3.1 Color

Las características colorimétricas del residuo de betabel obtenidas a partir de las coordenadas L^* , a^* , b^* y los ángulos h° y C^* se muestran en la Tabla 6, en donde la muestra control obtuvo los valores más altos en las coordenadas L^* , b^* , C^* y h° (17.53, 4.45, 11.05, 18.32, respectivamente). Todas las muestras presentaron valores de a^* y b^* positivos, ubicándolas en el cuadrante rojo-amarillo (Figura 7). Para

la coordenada a^* , los tratamientos consiguieron de 3.49 a 6.73, siendo mayores 2 tratamientos de los 5 puntos centrales de 77.5%/9 min (6.61y 6.73) incluso con el control (5.87). El mismo comportamiento se reportó en cáscara de tuna ultrasonificada, dónde la muestra control obtuvo los valores más altos en las coordenadas L^* , a^* , b^* (Manzur, 2017), esto es debido a que el tratamiento de ultrasonido involucra cambios físicos, químicos o biológicos (Adekunte *et al.*, 2010), ocasionados por el rompimiento de partículas susceptibles como los pigmentos, provocando la degradación del color (Tiwari *et al.*, 2008). Los parámetros que alcanzaron una $R^2 \geq 90$ fueron las coordenadas b^* y C^* .

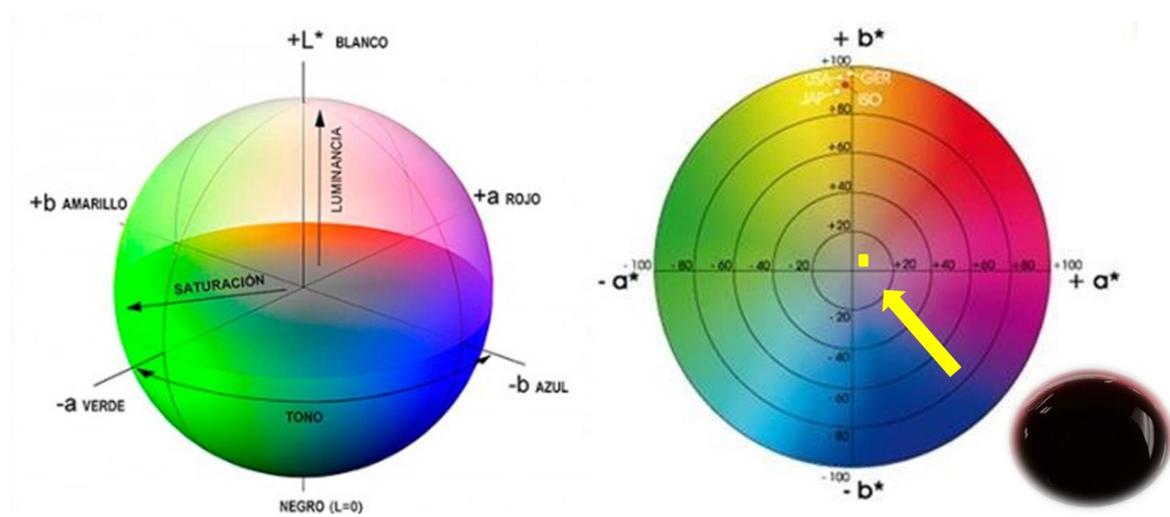


Figura 7. Escala de color CIE Lab, hue y chroma.

Tabla 6. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre los parámetros del color

Tratamiento (%amplitud/min)	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
Control	17.53±0.37	5.87±0.54	4.45±0.00	11.05±0.37	18.32±0.12
67%/9min	11.33±0.16	3.49±0.10	1.31±0.14	3.79±0.09	12.86±0.38
77.5%/15min	14.59±0.01	4.52±0.05	0.62±0.01	5.06±0.34	12.56±1.21
85%/5min	10.16±0.08	4.47±0.05	1.18±0.01	4.62±0.06	13.86±0.66
70%/13min	10.41±0.51	5.56±0.08	0.97±0.07	5.76±0.01	12.99±0.79
77.5%/9min	11.01±1.09	5.69±0.29	1.55±0.33	6.10±0.06	14.72±0.12
77.5%/9min	11.76±0.06	4.72±0.05	1.17±0.04	5.72±0.26	10.78±0.05
77.5%/3min	10.15±0.08	4.05±0.02	0.54±0.05	4.01±0.20	12.47±0.51
77.5%/9min	11.15±1.21	6.61±0.05	1.53±0.04	6.89±0.06	16.44±0.31
88%/9min	7.46±0.28	3.54±0.11	2.08±0.13	4.35±0.02	15.89±0.45
85%/13min	9.73±0.08	4.26±0.13	1.31±0.07	4.52±0.12	14.77±0.35
77.5%/9min	14.60±0.08	5.73±0.12	1.50±0.05	6.06±0.02	16.13±0.50
70%/5min	10.79±0.03	4.78±0.21	0.95±0.39	2.72±0.01	13.26±0.18
77.5%/9min	9.45±0.39	6.73±0.17	1.70±0.81	6.86±0.11	14.04±0.65
R^2	0.48	0.67	0.91	0.93	0.35

±: desviación estándar

De acuerdo a los resultados de coeficiente de regresión (Tabla 7), se puede apreciar que el tiempo en su término cuadrático (β_{22}), fue el que tuvo una influencia significativa ($p < 0.0001$) para la coordenada b^* , mientras que para C^* , fue el cuadrático de amplitud (β_{11}) el que afectó de manera significativa ($p < 0.001$). En la Figura 8 se puede apreciar que existe una disminución de b^* cuando se incrementa el tiempo a partir de los 8 minutos y de C^* al disminuir la amplitud, decrece el valor de *chroma*, respectivamente. Aunque no se han reportado estudios en residuos de

vegetales, en jugo de tomate ultrasonificado, el tiempo afectó significativamente ($p < 0.05$) en los valores de b^* (Adekunte *et al.*, 2010). Por otra parte, Tiwari *et al.*, (2008) encontraron en un jugo de naranja que el término cuadrático de amplitud tuvo un efecto significativo ($p < 0.0001$) sobre C^* . Lo anterior se debe a que la degradación de color se produce por las condiciones físicas extremas que ocurren durante la sonicación, provocando la descomposición de pigmentos (Zhao *et al.*, 2006) o de ácido ascórbico, debido a la formación de grupos carbonilo reactivos que actúan como precursores del oscurecimiento no enzimático (Joslyn, 1961).

Tabla 7. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta

Coeficiente	b^*	Chroma
β_0 (Intercepto)	1.49 ^a	6.33 ^a
β_1 (amplitud)	0.21 ^c	0.18
β_2 (tiempo)	0.03	0.55 ^c
β_{12} (amplitud*tiempo)	0.03	-0.79 ^c
β_{11} (amplitud*amplitud)	0.09	-1.10 ^b
β_{22} (tiempo*tiempo)	-0.46 ^a	-0.87 ^c

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

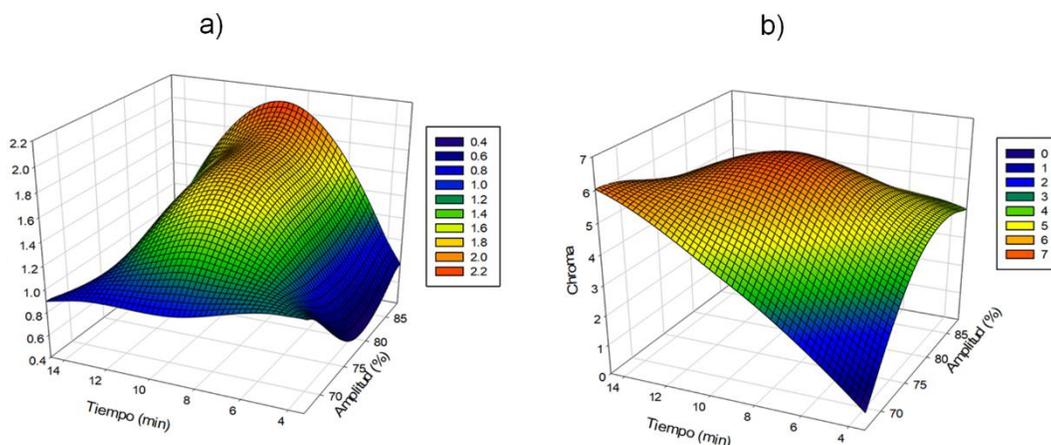


Figura 8. Efecto del ultrasonido sobre la coordenada b^* (a) y $Chroma$ (b) del residuo de betabel.

7.3.2 Viscosidad y propiedades funcionales del residuo de betabel

Se midió la viscosidad del residuo a cada tratamiento ultrasonificado, así como también su capacidad de retención de agua (CRA) y de lípidos (CRL) (Tabla 8). Se encontró que la viscosidad de los diferentes tratamientos ultrasonificados del residuo, tuvieron un rango de 12.85 a 15.08 cP, siendo mayores que la muestra control (3.13 cP). En investigaciones sobre jugo de zanahoria (Zoung y Yiang, 2016) y en purés de tomate y aguacate (Anese *et al.*, 2015; Bi *et al.*, 2015) se reportaron comportamientos similares, donde las muestras que se sometieron a ultrasonido incrementaban sus niveles de viscosidad con respecto a sus muestras control. Seshadri *et al.*, (2003) explicaron que dependiendo de la intensidad del ultrasonido, la viscosidad puede aumentar o disminuir, siendo el efecto temporal o permanente. El incremento que tuvo el residuo de betabel ultrasonificado, se ocasionó por el rompimiento de las moléculas conduciendo a una mejor interacción entre las partículas (Vercet *et al.*, 2002). Es importante resaltar que, si hay un aumento aparente de la viscosidad, también en la capacidad de retención de agua, promoviendo las propiedades de hidratación (Soria y Villamiel, 2010).

En cuanto CRA, se obtuvieron valores de 11.58 a 13.06 g/g y de 9.96 a 12 g/g en CRL (Tabla 8). Estos resultados fueron similares a lo reportado por Manzur (2017) en cáscara de tuna ultrasonificada, donde los valores fueron de 10.40 a 14.20 g/g en CRA y de 6.80 a 8.40 para CRL. Por el contrario, un subproducto de zarzamora exhibió valores de 2.94 y 1.98 g/g respectivamente (Zafra, 2019). Cabe mencionar que en el presente trabajo, las 3 determinaciones antes mencionadas se ajustaron al modelo matemático, obteniendo una $R^2 \geq 90$.

Tabla 8. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre viscosidad y propiedades funcionales de la fibra

Tratamiento (%amplitud/min)	Viscosidad (cP)	Capacidad de Retención de Agua (g/g)	Capacidad de Retención de Lípidos (g/g)
Control	3.13±0.06	10.42±0.44	9.36±0.12
67%/9min	14.53±0.11	12.40±0.51	10.43±0.15
77.5%/15min	12.85±0.07	12.01±0.00	10.63±0.07
85%/5min	14.75±0.35	12.22±0.20	10.37±0.00
70%/13min	14.20±0.28	11.87±0.03	10.27±0.01
77.5%/9min	14.90±0.14	12.07±0.13	10.41±0.03
77.5%/9min	14.97±0.32	12.07±0.03	10.59±0.11
77.5%/3min	13.90±1.07	11.58±0.22	10.06±0.13
77.5%/9min	14.97±0.65	12.00±0.00	9.96±0.00
88%/9min	15.08±0.11	13.06±0.05	11.84±0.00
85%/13min	14.20±0.00	12.80±0.17	12.00±0.16
77.5%/9min	14.80±0.52	12.45±0.01	10.56±0.08
70%/5min	14.55±0.07	12.14±0.20	10.60±0.02
77.5%/9min	14.90±0.71	12.03±0.63	10.60±0.22
R^2	0.93	0.92	0.92

±: desviación estándar. cP (centipoises); g/g (gramos por gramo).

La Tabla 9 presenta el coeficiente de regresión lineal de los parámetros ajustados al modelo matemático. Para viscosidad, el término cuadrático de tiempo (β_{22}) tuvo un efecto significativo con $p < 0.0001$, en la Figura 9a, se muestra que al incrementar el tiempo de ultrasonido, la viscosidad de los valores van disminuyendo. Al igual que en un estudio en jugo de piña, el tiempo fue el que afectó significativamente ($p < 0.05$) la viscosidad (Costa *et al.*, 2013). Por lo contrario, Zou y Jiang (2016) en un jugo de

zanahoria, encontraron un efecto significativo ($p < 0.05$) donde al incrementar el tiempo, aumentó la viscosidad. La disminución es debido a la ruptura de las moléculas de la fibra, conduciendo a un descenso del peso molecular de los carbohidratos (Tiwari, 2010), y por ende, este comportamiento en la viscosidad del residuo de betabel. Sin embargo, el efecto de ultrasonido sobre la viscosidad depende de la estructura de las moléculas de la matriz con la que se esté trabajando (Botello *et al.*, 2002).

En CRA, el cuadrático de amplitud (β_{11}) fue el que influyó significativamente ($p < 0.001$); esto indica que al aumentar la amplitud de ondas por ultrasonido, hubo mayor capacidad de retención de agua por parte del residuo (Figura 9b). La CRL se vio influenciada por el término lineal de amplitud (β_1) ($p < 0.001$), en la Figura 9c se aprecia el aumento conforme se incrementa la amplitud. Este comportamiento fue totalmente opuesto a lo encontrado por Manzur (2017), donde el tiempo fue quien tuvo un impacto significativo ($p < 0.001$) sobre la CRL en cáscara de tuna ultrasonicada. Usar altos niveles de amplitud tiene un efecto beneficioso, ya que propaga la formación de micro fracturas en las paredes vegetales, fragmentando la estructura de la fibra, aumentando la superficie de contacto (Chua *et al.*, 2009), generando mayor capacidad para absorber y atrapar componentes de naturaleza aceitosa (Leontowicz *et al.*, 2003).

Tabla 9. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta

Coeficiente	Viscosidad	CRA	CRL
β_0 (Intercepto)	14.91 ^a	12.12 ^a	10.42 ^a
β_1 (amplitud)	0.12	0.24 ^c	0.44 ^b
β_2 (tiempo)	-0.30 ^c	0.11	0.26 ^d
β_{12} (amplitud*tiempo)	-0.05	0.21 ^d	0.49 ^c
β_{11} (amplitud*amplitud)	0.03	0.30 ^b	0.37 ^c
β_{22} (tiempo*tiempo)	-0.68 ^a	-0.17 ^d	-0.02

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$. CRA (Capacidad de retención de agua); CRL (Capacidad de retención de lípidos).

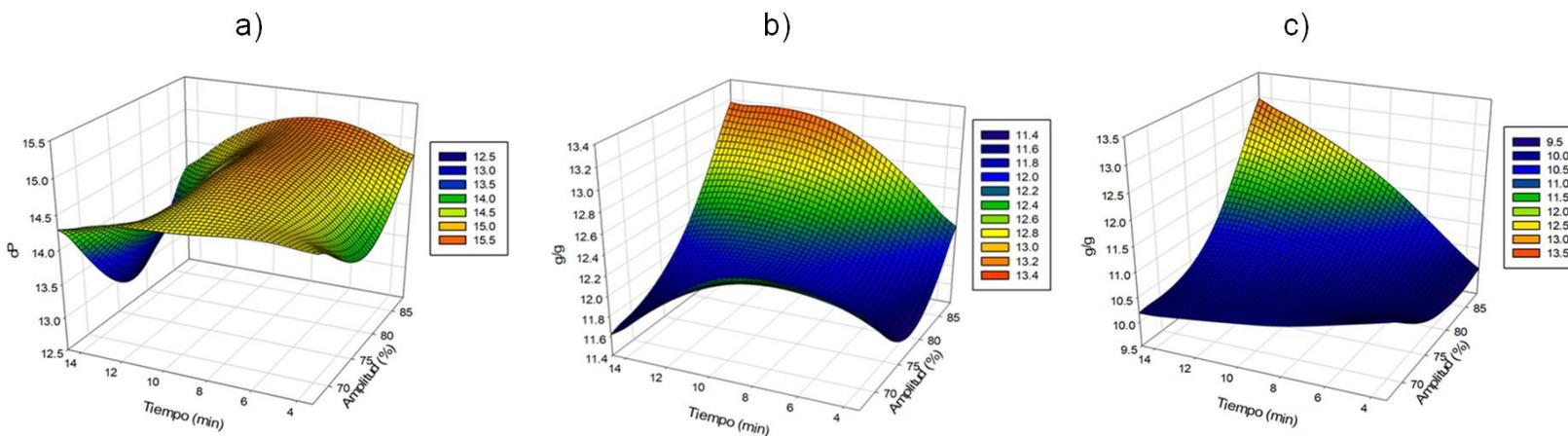


Figura 9. Efecto del ultrasonido sobre la viscosidad (a), la capacidad de retención de agua (b) y lípidos (c) del residuo de betabel.

7.4 Contenido de compuestos bioactivos

7.4.1 Betalaínas

Las betalaínas son los pigmentos responsables del color del betabel (Saenz, Cancino y Robert, 2012). El contenido de betaninas y betaxantinas en el residuo fueron de 953.65-1049.74 mg EB/100 g bs y 682.79-758.94 mg EI/100 g bs, respectivamente (Tabla 10) y todos los tratamientos incrementaron su valor en comparación al control (626.58 mg EB/100 g bs; 443.01 mg EI/100 g bs, respectivamente), siendo los más altos en betaninas el tratamiento de 70%/5min (1049.74 mg EB/100 g bs), y el de 77.5%/9min (758.94 mg EI/100 g bs) para betaxantinas. Estos resultados fueron mayores a lo investigado por Manzur (2017), quién reportó en cáscara de tuna valores de 16.96 a 19.30 mg EB/100 g bs en betaninas y de 7.54 a 11.37 mg EI/100 g bs en betaxantinas. De acuerdo al coeficiente de regresión (Tabla 11), el término cuadrático de amplitud (β_{11}), fue el factor que influyó sobre el contenido de betaninas ($p < 0.0001$) y betaxantinas ($p < 0.001$). Lo anterior se puede apreciar en la Figura 10, donde se observa una menor concentración de estas betalaínas al aplicar mayor porcentaje de amplitud. Rawson *et al.*, (2011), menciona que al aumentar la sonicación se produce una disminución de betalaínas debido a la producción de radicales libres, induciendo la oxidación. De la misma forma en cáscara de tuna ultrasonicada, el cuadrático de amplitud afectó significativamente ($p < 0.01$), sin embargo, el tiempo fue el que tuvo un mayor efecto significativo ($p < 0.0001$) sobre los valores de betalaínas (Manzur, 2017). Este comportamiento puede diferir dependiendo del alimento y del pigmento que se quiere analizar, por ejemplo, en el caso de un residuo de zarzamora, donde se estudió las antocianinas, fue el tiempo en su término lineal quien tuvo un efecto significativo ($p < 0.0001$) (Zafra, 2017).

Tabla 10. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre los compuestos antioxidantes.

1

Tratamiento (%amplitud/min)	Betalaínas		Contenido fenólico total (mg EAG/100 g bs)	Ácido Ascórbico (mg EAA/100 g bs)
	Betaninas (mg EB/100 g bs)	Betaxantinas (mg EI/100 g bs)		
Control	626.58±2.51	443.01±2.11	404.43±3.61	543.13±42.58
67%/9min	953.65±23.21	682.79±0.29	451.63±180.65	100.70±1.17
77.5%/15min	1034.64±59.95	736.94±1.61	463.54±185.41	92.62±1.17
85%/5min	953.65±44.68	720.01±12.41	375.44±150.18	90.60±4.67
70%/13min	986.29±20.10	710.94±16.24	395.34±158.14	103.39±3.09
77.5%/9min	1046.72±40.75	740.32±51.58	496.53±198.61	100.02±0.00
77.5%/9min	1047.93±94.98	757.24±12.86	480.03±192.01	104.40±2.10
77.5%/3min	1033.43±0.00	758.94±162.24	395.85±158.34	103.73±1.54
77.5%/9min	1040.68±0.00	745.4±98.25	492.02±196.81	105.07±0.00
88%/9min	953.65±58.02	703.94±37.52	480.09±192.04	77.80±2.02
85%/13min	1033.43±11.60	751.32±10.15	566.09±226.44	91.27±1.17
77.5%/9min	1034.64±48.31	746.24±28.14	538.82±215.53	98.00±0.00
70%/5min	1049.74±116.23	752.17±4.57	490.24±196.10	88.58±2.33
77.5%/9min	1028.59±125.15	743.7±85.96	477.33±190.93	100.02±0.00
R^2	0.96	0.94	0.93	0.54

mg EB/100 g bs (miligramos equivalentes de betaninas por 100 g de base seca); mg EI/100 g bs (miligramos equivalentes de indicaxantinas por 100 g de base seca); mg EAG/100 g bs (miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de base seca); mg EAA/100 g bs (miligramos equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de base seca)

Tabla 11. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta

Coeficiente	Betaninas	Betaxantinas	Contenido Fenólico Total
β_0 (Intercepto)	1039.71 ^a	746.58 ^a	496.95 ^a
β_1 (amplitud)	-6.12	4.77	12.02
β_2 (tiempo)	2.26	-5.13	23.93 ^d
β_{12} (amplitud*tiempo)	35.81 ^b	18.14 ^c	71.39 ^b
β_{11} (amplitud*amplitud)	-40.05 ^a	-23.37 ^b	-13.29
β_{22} (tiempo*tiempo)	0.15	3.92	-31.38 ^c

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

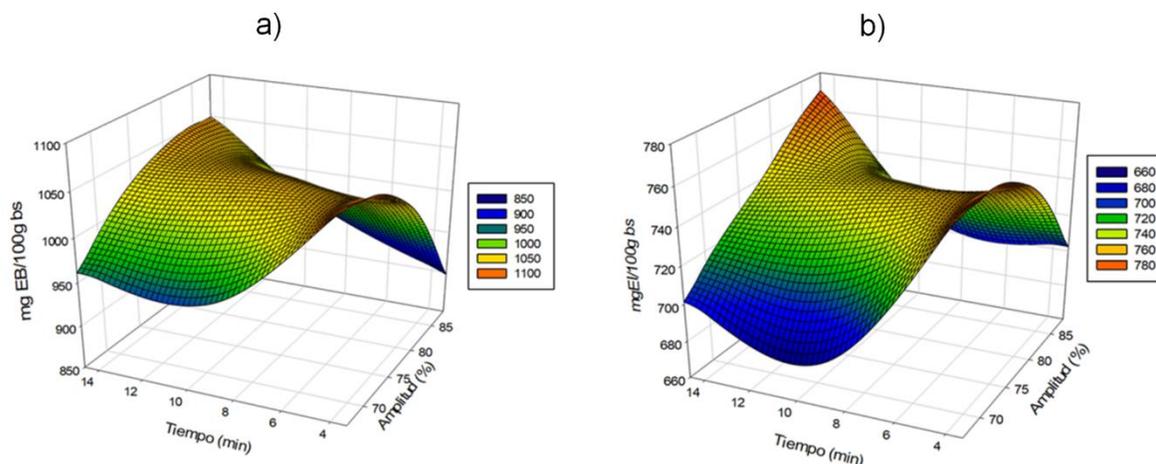


Figura 10. Efecto del ultrasonido sobre las betaninas (a) y betaxantinas (b) del residuo de betabel.

7.4.2 Contenido fenólico total

Los valores de la determinación de los compuestos fenólicos totales del residuo de betabel ultrasonificado fueron de 375.44 a 566.09 mg EAG/100 g bs, aumentando con respecto al control (404.43 mg EAG/100 g bs), a excepción de las muestras tratadas 85%/5min, 70%/3min y 77.5%/3min (Tabla 10). Rangos mayores fueron encontrados en cáscara de tuna (*Opuntia ficus-indica*) (639.13 a 811.23 mg EAG/100 g bs) y en

residuo de zarzamora (*Rubus fruticosus*) (933.63 a 1438.14 EAG/100 g bs) (Manzur, 2017; Zafra, 2015). Los resultados obtenidos se ajustaron al modelo matemático con una R^2 de 0.93 y de acuerdo al coeficiente de regresión (Tabla 11), la interacción de amplitud y tiempo (β_{12}) fue la que influyó significativamente ($p < 0.001$), mostrando que hay mayor cantidad de compuestos fenólicos al aumentar el tiempo y amplitud (Figura 11). Este comportamiento fue similar en cáscara de granada ($p < 0.05$) y cáscara de mango ultrasonicadas ($p < 0.0001$) (Sharayei, Azarpazhooh, Zomorodi y Ramaswamy, 2019; Neria, 2015), sin embargo, fue diferente a lo documentado por Manzur (2017) y Zafra (2015), quienes reportaron en cáscara de tuna púrpura y residuo de zarzamora (*Rubus fruticosus*) ultrasonicados, que el cuadrático de amplitud afectó significativamente ($p < 0.0001$).

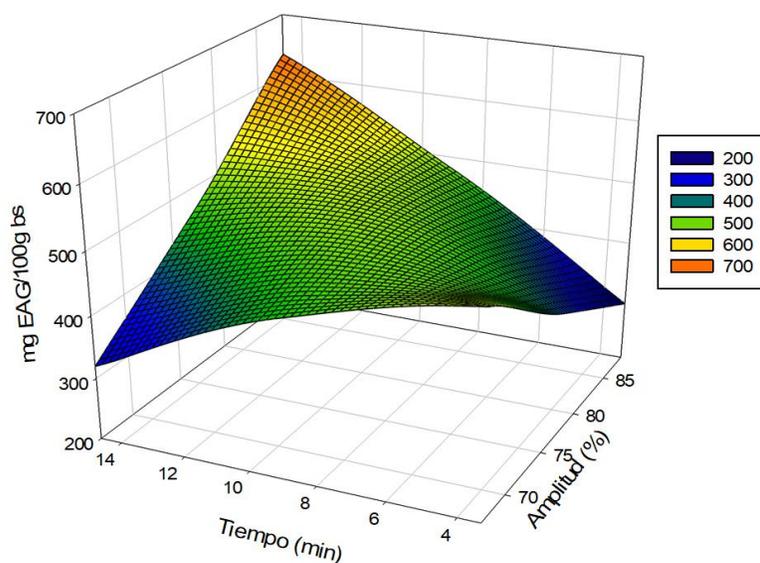


Figura 11. Efecto del ultrasonido sobre el contenido fenólico total del residuo de betabel.

7.4.3 Ácido ascórbico

Los valores de ácido ascórbico de los tratamientos fueron de 77.80 a 105.07mg EAA/100 g bs, y fueron menores en relación con la muestra control (543.13 mg EAA/100 g bs), siendo el de 88%/9min el que obtuvo los valores más bajos (77.80 mg EAA/100 g bs) (Tabla 10). La degradación del ácido ascórbico se debe, en parte,

a la inestabilidad que presenta este compuesto (Abid *et al.*, 2014) y a procesos oxidativos que se dan durante la sonicación asociados con la producción de radicales hidroxilo (Valdramis *et al.*, 2010). Aunque existió una reducción de ácido ascórbico en las muestras, estos valores fueron mayores a los exhibidos en cáscara de plátano (*Musa acuminata*) ultrasonicada con 4.3 a 4.5 mg EAA/100 g (Said *et al.*, 2016). Mientras que en estudios de cáscara de tuna roja (*Opuntia ficus-indica*) ultrasonicada y cáscara de uva (*Vitis vinífera*) reportaron valores de 221.59 a 335.23 y 355.33 a 434.28 mg EAA/100 g, respectivamente (Manzur, 2017; Medina y Barbosa, 2015).

7.5 Actividad antioxidante

7.5.1 ABTS^{•+}

Los residuos de betabel ultrasonicados arrojaron valores de 1507.93 a 2126.83 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$, teniendo un aumento en comparación a la muestra sin ultrasonicar (1470.73 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$), siendo el tratamiento a 70%/13min el de mayor actividad (2126.83 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$) (Tabla 12). Neria (2015), Zafra *et al* (2016) y Manzur (2017), obtuvieron 65437.50 a 87833.33, 4538.77 a 6953.86 y de 9600 a 11505 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ en cáscara de mango, residuo de zarzamora y cáscara de tuna, respectivamente, datos más altos que los presentados en este trabajo. Los resultados de actividad antioxidante, medida por la capacidad de atrapamiento del radical libre ABTS^{•+} se ajustaron al modelo con una R^2 de 0.99. Se puede observar en la Tabla 13, que esta capacidad se vio afectada principalmente por el término lineal de tiempo y la interacción de amplitud y el tiempo (β_2 y β_{12} ; $p < 0.0001$). Este efecto se puede apreciar en la Figura 12, en donde a mayor tiempo hay un incremento de actividad antioxidante, mientras que la combinación de tiempo y amplitud al ir disminuyendo la actividad antioxidante, va decreciendo. En cáscara de mandarina (*Citrus unshiu*) expusieron que al aumentar el tiempo se favorece la actividad antioxidante ($p < 0.05$) (Ma *et al.*, 2008). Por otra parte, en residuo de zarzamora y cáscara de tuna, ambos el tiempo en su término cuadrático tuvieron un impacto significativo (β_{22} ; $p < 0.0001$ y $p < 0.001$, respectivamente) (Zafra, 2016; Manzur 2017).

Tabla 12. Efecto del tratamiento por ultrasonido sobre la actividad antioxidante

Tratamiento (%amplitud/min)	ABTS•+ ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ bs)	DPPH• ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ bs)	FRAP ($\mu\text{mol Fe}$ (II)/100 g bs)	Quelante (%)
Control	1470.73 \pm 3.52	1320.45 \pm 0.27	83.08 \pm 0.36	32.64 \pm 0.17
67%/9min	1800.93 \pm 0.81	1582.06 \pm 5.75	81.31 \pm 0.28	29.58 \pm 0.80
77.5%/15min	1815.85 \pm 2.11	1029.32 \pm 0.30	60.46 \pm 1.95	27.12 \pm 2.12
85%/5min	1882.93 \pm 31.96	1322.22 \pm 45.01	69.44 \pm 0.63	32.75 \pm 0.13
70%/13min	2126.83 \pm 33.20	879.02 \pm 1.09	68.16 \pm 0.92	33.28 \pm 0.21
77.5%/9min	1803.66 \pm 3.66	1522.25 \pm 0.02	78.51 \pm 0.28	27.30 \pm 1.29
77.5%/9min	1812.80 \pm 18.29	1563.73 \pm 0.20	78.54 \pm 0.48	27.64 \pm 1.44
77.5%/3min	1687.80 \pm 49.81	807.34 \pm 0.86	78.56 \pm 0.36	24.48 \pm 1.15
77.5%/9min	1825.00 \pm 29.57	1502.80 \pm 1.50	80.17 \pm 0.51	24.38 \pm 2.09
88%/9min	1689.20 \pm 0.54	2199.21 \pm 24.44	68.12 \pm 0.20	31.52 \pm 0.54
85%/13min	1517.07 \pm 11.18	2100.00 \pm 12.60	63.06 \pm 0.38	24.83 \pm 0.07
77.5%/9min	1803.66 \pm 29.95	1562.96 \pm 4.85	81.54 \pm 0.23	26.91 \pm 0.14
70%/5min	1507.93 \pm 7.62	1379.22 \pm 0.72	87.51 \pm 0.43	20.67 \pm 1.61
77.5%/9min	1776.98 \pm 0.53	1953.17 \pm 26.23	80.29 \pm 1.12	28.19 \pm 1.86
R^2	0.99	0.93	0.99	0.94

\pm : desviación estándar. $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ bs (micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de base seca); $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g}$ bs (micromoles de hierro 2 por 100 g de base seca).

Tabla 13. Coeficiente de regresión y ANOVA de los parámetros del modelo cuadrático de predicción de superficie de respuesta

Coeficiente	ABTS ⁺⁺	DPPH [•]	FRAP	Quelante
β_0 (Intercepto)	1804.42 ^a	1619.84 ^a	79.81 ^a	26.88 ^a
β_1 (amplitud)	-49.10 ^b	254.07 ^c	-5.23 ^a	0.80
β_2 (tiempo)	54.27 ^a	74.50	-6.42 ^a	1.05 ^d
β_{12} (amplitud*tiempo)	-246.19 ^a	318.45 ^c	3.24 ^b	-5.13 ^a
β_{11} (amplitud*amplitud)	-27.12 ^c	139.88 ^d	-2.57 ^b	1.76 ^c
β_{22} (tiempo*tiempo)	-23.74 ^d	-347.22 ^b	-5.17 ^a	-0.62

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

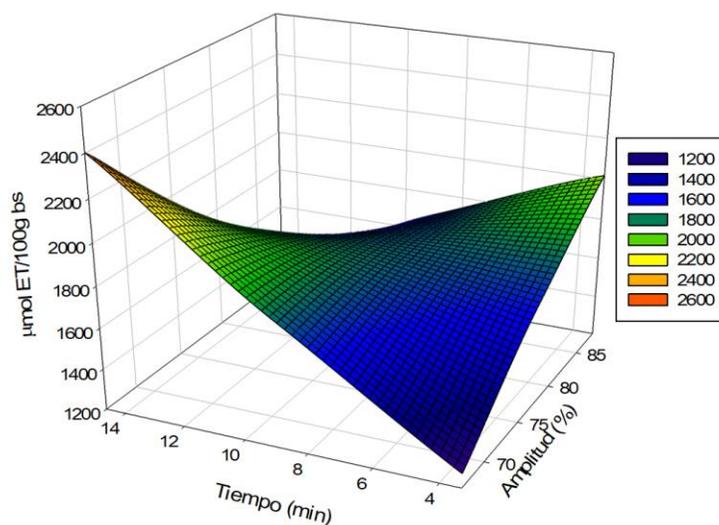


Figura 12. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de ABTS⁺⁺.

7.5.2 DPPH[•]

Los valores de los diferentes tratamientos en cuanto a la actividad antioxidante por DPPH[•] se muestran en la Tabla 12, se obtuvieron valores de 807.34 a 2199.21 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$; resaltando que las muestras tratadas fueron superiores que el control (1320.75 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$), excepto por los tratamientos de 77.5%/15min,

70%/13min y 77.5%/3min. En cáscara de tuna se reportó un rango inferior de 661 a 788 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ (Manzur, 2017); mientras que en residuo de zarzamora de 7050.25 a 9571.14 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ (Zafra, 2016), siendo estos mayores a lo encontrado en este estudio. Este parámetro se ajustó al modelo matemático (R^2 de 0.93). Al analizar el coeficiente de regresión, se percibió una influencia significativa ($p < 0.001$) del tiempo en su término cuadrático (β_{22}) (Tabla 13). Se aprecia que al incrementar el tiempo de aplicación de ultrasonido a más de 12 minutos, se disminuye la inhibición del radical (Figura 13). Un comportamiento similar se presentó en residuo de zarzamora y cáscara de tuna ($p < 0.001$) (Zafra, 2016; Manzur, 2017), sin embargo, en cáscaras de manzana, naranja y papa, se observó que al prolongar el tiempo de extracción, se incrementó la inhibición del radical DPPH• ($p < 0.001$) (Deng *et al.*, 2015; Singanusong *et al.*, 2015; Amado, Sánchez *et al.*, 2014). Las diferencias reportadas en la actividad antioxidante del residuo de betabel con otras matrices, se relacionan directamente al contenido de compuestos fenólicos, ya que actúan directamente sobre el radical, por lo que, a mayor concentración, mejor será la inhibición de radicales (Bensadón *et al.*, 2010). Esto se puede corroborar en la Tabla 9, donde se muestra el incremento de los compuestos fenólicos en los diferentes tratamientos.

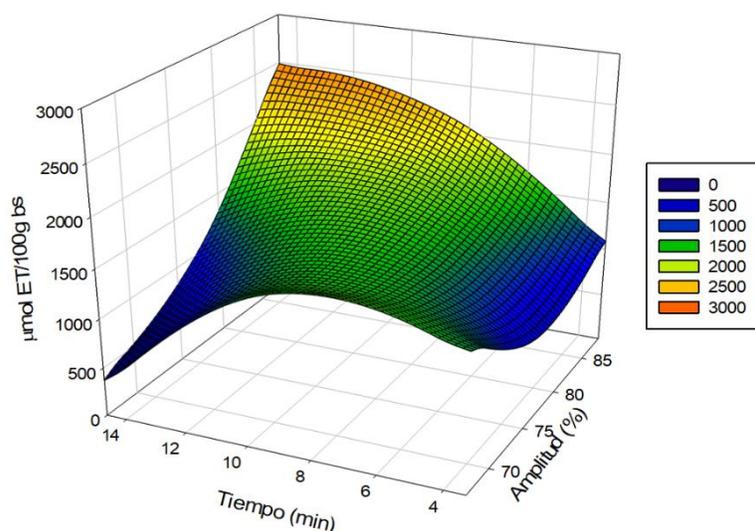


Figura 13. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de DPPH•.

7.5.3 FRAP

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de FRAP, siendo de 60.46 a 87.51 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g bs}$. La muestra control obtuvo el valor más alto (83.08 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g bs}$) en comparación a las muestras tratadas, excluyendo al tratamiento de 70%/5min, quien presentó 87.51 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g bs}$. Rangos mayores fueron encontrados en cáscaras ultrasonificadas de granada y manzana, de 287 a 1951.60 y de 152.89 a 271.93 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ g bs}$, respectivamente (Sharayei *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2015). Este parámetro se ajustó al modelo matemático ($R^2 \geq 0.99$). Los coeficientes de regresión del modelo (Tabla 13) muestra que tanto la amplitud (β_1) como el tiempo en su término lineal y cuadrático (β_2 y β_{22}) tuvieron un efecto significativo ($p < 0.0001$), lo cual se percibe en la Figura 14, donde se visualiza que la menor actividad antioxidante, se obtiene al aumentar la amplitud y el tiempo de aplicación. Sharayei *et al* (2019) expusieron en cáscara de granada que el contenido de FRAP decrece al elevar el tiempo de ultrasonido ($p < 0.05$), contrario a cuando amplían la amplitud, dándose un incremento de este ($p < 0.05$).

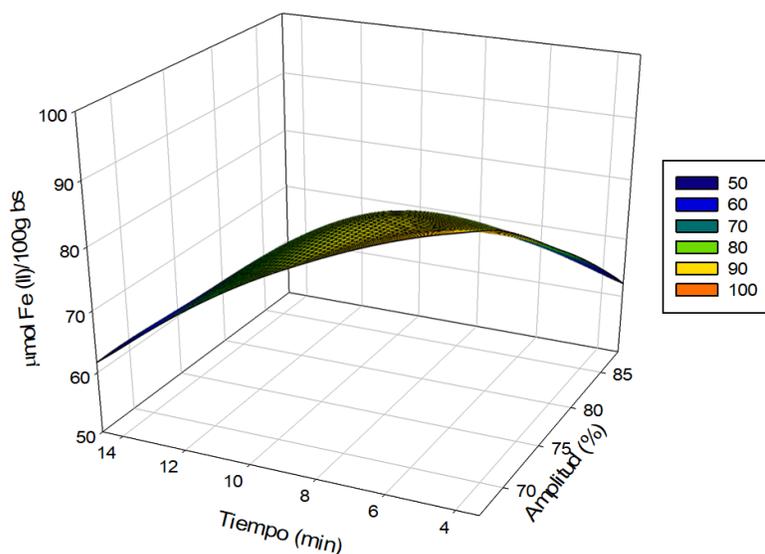


Figura 14. Efecto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante del residuo de betabel medida por el método de FRAP.

7.5.4 Actividad quelante

Los resultados mostraron una disminución de la actividad quelante en los residuos ultrasonicados con respecto al control (32.64%), arrojando valores de 20.67 a 33.28%, excepto por el tratamiento de 70%/13min, este parámetro se ajustó al modelo matemático con una R^2 de 0.96 (Tabla 12). No existe evidencia sobre actividad quelante en residuos vegetales ultrasonicados, sin embargo, en un estudio de jugo de tuna roja (Zafra *et al.*, 2013) se encontró que el valor más elevado se dio en el tratamiento con amplitud de 80% en un tiempo de 25 minutos. El coeficiente del modelo de regresión (Tabla 13) reportó que la interacción de amplitud y tiempo (β_{12}) tuvo un efecto significativo ($p < 0.0001$), observando en la Figura 15, que la actividad quelante es mínima cuando se aplica el menor tiempo y amplitud. Los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad quelante, estos pueden reaccionar como agentes quelantes de metales, siendo efectivos como antioxidantes secundarios porque reducen el potencial redox, estabilizando la forma oxidada del ion metálico (Sumaya-Martínez *et al.*, 2011; Saravanan y Aradhya, 2011).

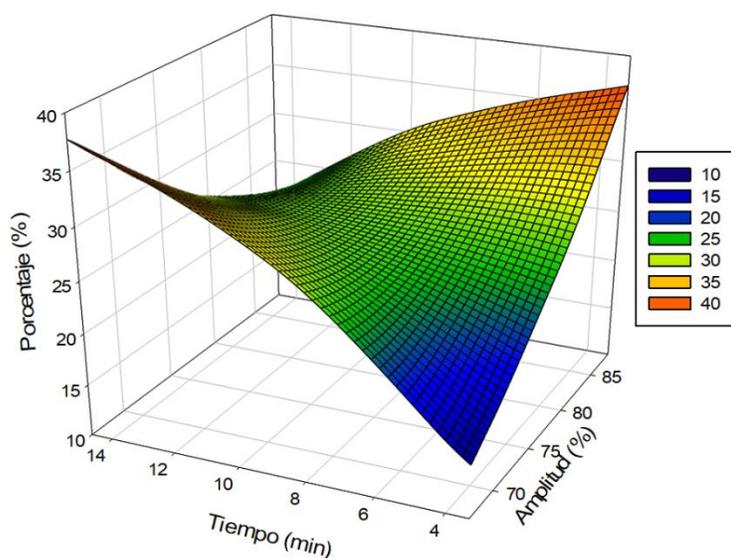


Figura 15. Efecto del ultrasonido sobre el porcentaje de actividad quelante del residuo de betabel.

7.6 Optimización del residuo de betabel ultrasonificado

El perfil de predicción del modelo de superficie de respuesta de cada variable de respuesta que se ajustó al modelo matemático, arrojó que la condición óptima del proceso de termoutrasonido fue a 77.5% de amplitud con un tiempo de 9 minutos de aplicación, con valores predicho de viscosidad de 14.91 cP, CRA de 12.20 g/g, CRL de 10.21 g/g, b^* de 1.49, C^o de 6.33, CFT de 496.95 mg EAG/100 g bs, betaninas de 3327.08 mg EB/100 g bs, betaxantinas de 2381.34 mg EI/100 g bs, ABTS de 1804.42 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$, DPPH de 1619.84 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$, FRAP de 79.81 $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ g bs}$ y quelante de 27.07%. Para identificar con más a claridad la condición óptima del proceso de ultrasonido del residuo de betabel, se utilizaron los parámetros que se ajustaron al modelo matemático, a cada una de ellas se realizó figuras de contorno para llevar a cabo la superposición de las figuras (Figura 16), donde se observa la zona de intersección de dichos parámetros con los valores obtenidos.

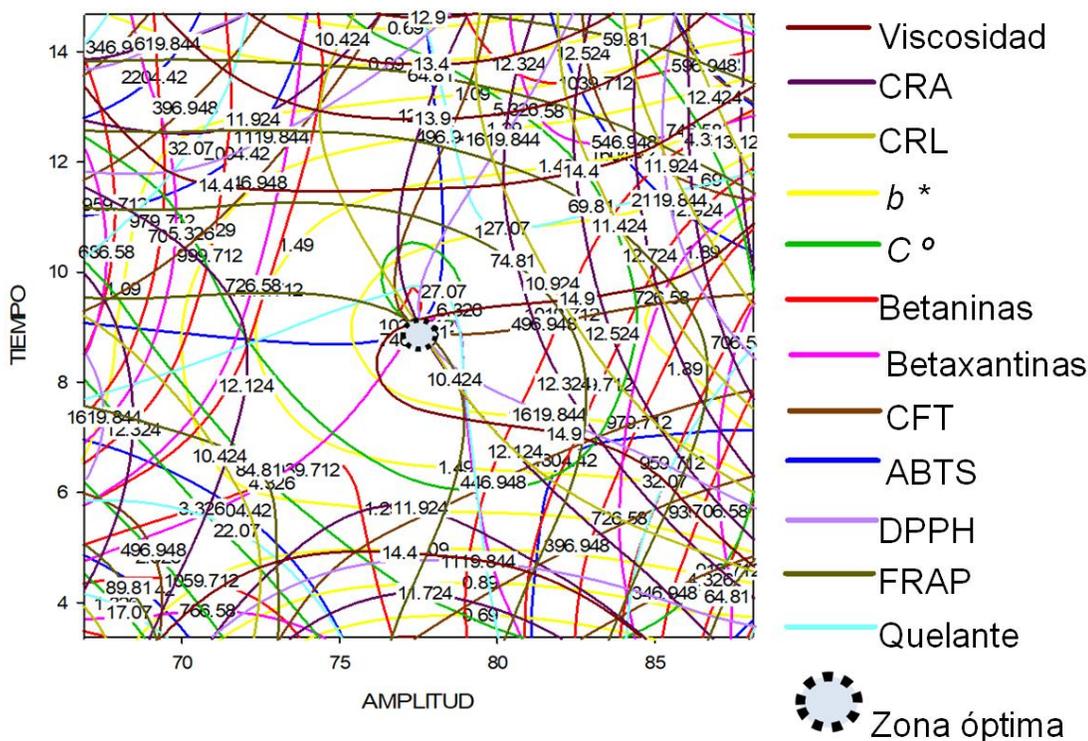


Figura 16. Superposición de todas las respuestas en la extracción por ultrasonido del residuo de betabel.

7.7 Reproducibilidad del estudio

Para poder conocer si la condición óptima del proceso obtenido es reproducible, se compararon los valores predichos con los experimentales (condición óptima del proceso) (Tabla 14). Se encontró que solo los parámetros de viscosidad, CRA y CRL son reproducibles ($p>0.05$).

Tabla 14. Reproducibilidad del modelo de superficie de respuesta.

Determinaciones	Valor predicho	Valor experimental
Viscosidad (cP)	14.91±0.23	15.65±1.28
Capacidad de retención de agua (g/g)	12.12±0.15	12.77±0.52
Capacidad de retención de lípidos (g/g)	10.42±0.24	10.98±0.24
<i>b</i> *	1.49±0.17	4.77±0.09*
<i>C</i> *	6.33±0.47	14.67±0.22*
Betaninas (mg EB/100 g bs)	1039.71±11.84	816.1056±2.21*
Betaxantinas (mg EI/100 g bs)	746.58±9.90	604.65±15.93*
CFT (mg EAG/100 g bs)	496.95±20.54	566.67±3.08*
ABTS (μmol ET/100 g bs)	1084.42±21.31	868.32±17.72*
DPPH (μmol ET/100 g bs)	1619.84±156.40	1056.57±14.13*
FRAP (μmol Fe (II)/100 g bs)	79.81±1.21	84.46±1.91*
Quelante (%)	26.88±1.21	33.75±2.68*

* Indica diferencia significativa $p<0.05$. CRA

7.8 Comparación del residuo de betabel optimizado por ultrasonido con el control

7.8.1 Efecto del ultrasonido sobre la estructura del residuo de betabel evaluado por microscopía electrónica de barrido

Las micrografías obtenidas por el microscopio electrónico de barrido (MEB) a magnificaciones de 250X y 500X, del residuo de betabel antes y después de ser sometido al tratamiento por ultrasonido se muestran en la Figura 17. En ambas se aprecia lo que podrían ser almidones y arreglos estructurales de las fibras conformadas por lignina, celulosa y hemicelulosa, principalmente. Se observan estructuras irregulares y poliédricas, destacando los gránulos de almidón alterados con adherencias proteicas, además de un alto contenido de fibra. Fue posible identificar la estructura intacta en la muestra sin tratamiento (imágenes a y b), mientras que después de la aplicación del ultrasonido, (imágenes c y d), se percibe un daño celular, demostrado por las variaciones en la forma y tamaño de las partículas de forma irregular y una formación de agregados. El comportamiento observado se debe a la ruptura del tejido mediante el calentamiento intramolecular y los efectos de cavitación que se ocasionan durante el ultrasonido (Bagherian *et al.*, 2011), así como de la producción de expansiones y compresiones en los componentes por donde atraviesan las ondas ultrasónicas, conllevando a un aumento en los espacios intercelulares derivado de los efectos de contracción y deformación celular (Puig *et al.*, 2012). Algunos autores indican que el proceso de ultrasonido induce el desarrollo de una red más fuerte capaz de aumentar la resistencia a la deformación, como también facilitar la expulsión del material de la pared celular y su distribución a través de toda la muestra, dado por la voluminosidad y porosidad producida en la estructura del residuo, permitiendo que el agua fluya con mayor facilidad en el espacio intermedio de la fibra (Colle *et al.*, 2010; Bi *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2014), proporcionando una mayor viscosidad, retención de agua y liberación de polifenoles (Anese *et al.*, 2013). Los resultados de estas propiedades se describirán en los siguientes apartados.

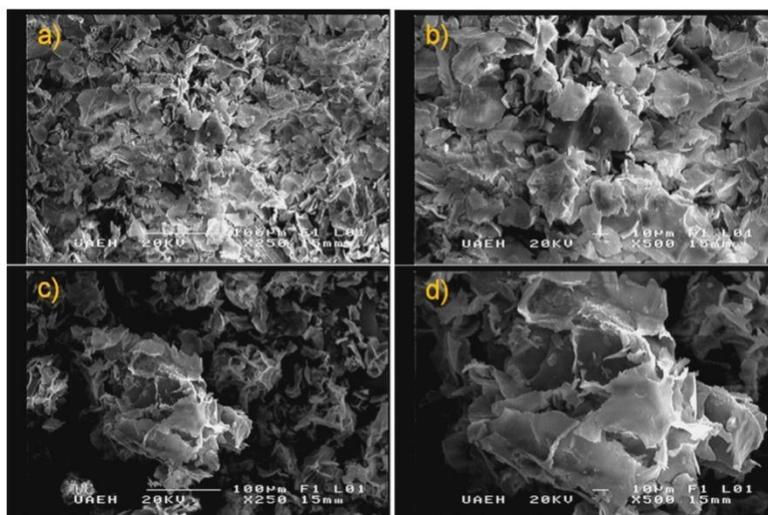


Figura 17. Microscopía electrónica de barrido del residuo de betabel. a) Control 250X y b) Control 500X; c) Óptimo ultrasonificado 250X, d) Óptimo ultrasonificado 500X.

7.8.2 Contenido de microorganismos

Para ver la inocuidad del residuo ultrasonificado optimizado, se llevó a cabo el análisis microbiológico a través del recuento total de mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB) comparándolo con una muestra control (Figura 18). Se puede observar que al aplicar el ultrasonido se obtuvo una disminución de MA de 0.77 \log^{10} UFC/mL e incluso hubo una total inactivación de EB. Esto es consecuencia del tratamiento de ultrasonido, el cual es un método que inactiva microorganismos en los alimentos (Juraga *et al.*, 2011), causando ruptura celular derivada de mecanismos fisicoquímicos que ocurren durante la cavitación (Oyane *et al.*, 2009). El efecto inhibitorio del crecimiento microbiano observado en este estudio es positivo, la inocuidad es un atributo fundamental de la calidad para el beneficio del consumidor (Garzón, 2009).

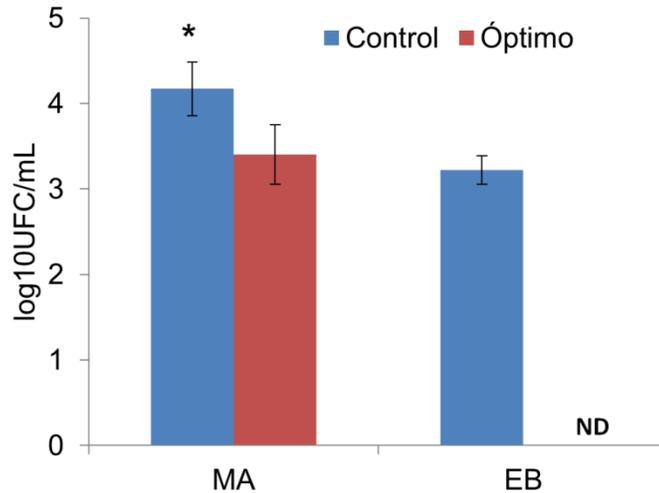


Figura 18. Recuento microbiológico de mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB) del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. (ND) No detectado. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre muestras.

7.8.3 Propiedades funcionales de la fibra

Los resultados obtenidos de las propiedades funcionales del residuo de betabel se aprecian en la Figura 19. La muestra optimizada por ultrasonido fue mayor significativamente ($p < 0.05$) tanto para CRA como para CRL con respecto al control, exhibiendo valores de 12.77 ± 0.52 y 10.52 ± 0.44 g/g para CRA y 10.98 ± 0.24 y 9.36 ± 0.12 g/g para CRL, respectivamente. El comportamiento observado se debe a la ruptura del tejido mediante el calentamiento intramolecular y los efectos de cavitación que se ocasionan durante el ultrasonido (Bagherian *et al.*, 2011), provocando que la estructura del residuo se vuelva voluminosa y porosa, permitiendo que el agua y/o lípidos fluyan con mayor facilidad en el espacio intermedio de la fibra (Li *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos dan la pauta a que se podría implementar en la industria alimentaria como un gelificante, espesante, emulsificante o para evitar la sinéresis en ciertos productos, aumentando también la viscosidad de estos (Bakirci *et al.*, 2017), además de que podría aumentar el consumo de fibra, que a su vez podría contribuir en la prevención de trastornos del intestino grueso como estreñimiento, diverticulitis y cáncer de colon (Mudgil y Barak, 2013).

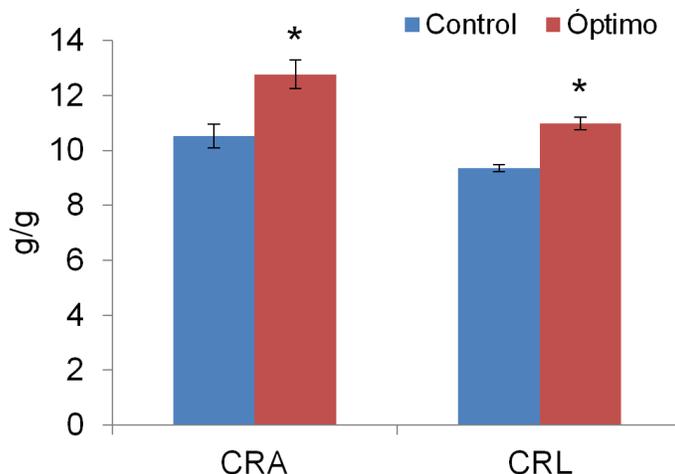


Figura 19. Capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de lípidos (CRL) del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre muestras.

7.8.4 Viscosidad

En la Figura 20 se muestran los resultados obtenidos de viscosidad en el residuo de betabel ultrasonificado óptimo y la muestra control; indicando que el residuo de betabel ultrasonificado fue mayor significativamente (15.65 ± 1.28 cP) que el control (3.45 ± 0.28 cP). La alta viscosidad presentada en el residuo se debe a que el ultrasonido permite una mayor penetración de humedad en la red de la fibra (Bates *et al.*, 2006), relacionado con el incremento de la CRA por las modificaciones en la estructura de la fibra insoluble, la cual es responsable de retener el agua en la matriz, y de proteínas después del tratamiento de ultrasonido, provocando que las partes hidrofílicas de los aminoácidos interactúen hacia los alrededores con el agua del medio (Kresic *et al.*, 2008). Esta característica es importante desde el punto de vista industrial, ya que se minimiza la necesidad de agregar aditivos o estabilizantes, satisfaciendo al mismo tiempo, la demanda del consumidor (Aguilar *et al.*, 2017). Un ejemplo de la implementación de esta tecnología es el residuo de zarzamora, el cual se adicionó a un yogurt y mostró un incremento en sus valores de viscosidad y capacidad de retención de agua (Meléndez, 2019).

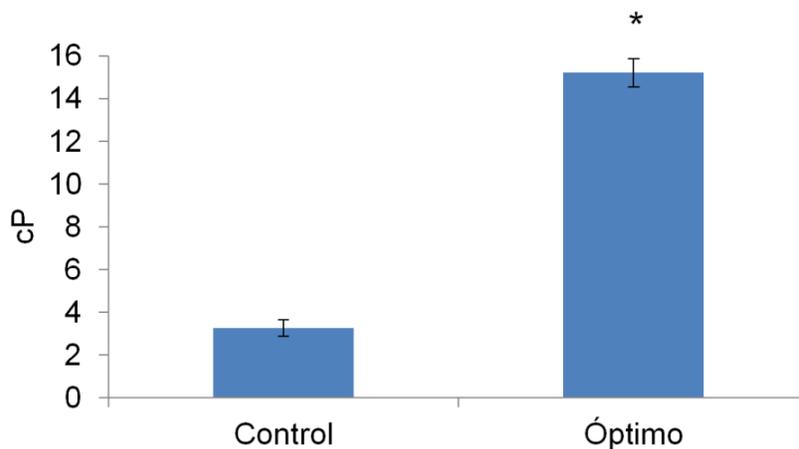


Figura 20. Viscosidad del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre muestras.

7.8.5 Color

La diferencia entre el residuo de betabel optimizado por ultrasonido y la muestra control sobre sus características colorimétricas se muestran en la Figura 21. Se puede observar que para ambos, la coordenada b^* (4.77 ± 0.09 y 4.74 ± 0.21 , respectivamente) y $Chroma$ (14.67 ± 0.22 y 14.74 ± 0.20 , respectivamente) no presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$); por otra parte, en las coordenadas L^* , a^* y h° fueron mayor significativamente ($p < 0.05$) en el control (7.49 ± 0.25 , 14.40 ± 0.23 y 18.73 ± 0.37 , respectivamente) en comparación con la muestra óptima por ultrasonido (7.23 ± 0.14 , 13.66 ± 0.24 y 16.84 ± 0.20 , respectivamente). La disminución de estos parámetros le otorgó un color más oscuro al residuo de betabel ultrasonificado y esto se atribuye a que la cavitación contribuye a cambios de color, induciendo a una degradación química de biomoléculas en el residuo (Adekunte *et al.*, 2010). A pesar de que el análisis estadístico arrojó una diferencia significativa del color entre las muestras, no es perceptible a simple vista (Figura 22). De acuerdo con FAO/OMS (2006) los colorantes derivados del betabel son reconocidos como colorantes naturales bajo la clasificación E 162 (betabel rojo o betanina), que es utilizado para varias aplicaciones en los alimentos, comopostres, confiterías, mezclas secas, lácteos y carnes. (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Por lo tanto, se podría utilizar el

residuo de betabel ultrasonificado no solo en los alimentos ya mencionados, sino también en diferentes productos alimenticios y que además conlleven a efectos beneficiosos sobre la salud humana como protección contra enfermedades cardiovasculares o algún tipo de cáncer por su contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante (como se observa en los resultados antes descritos).

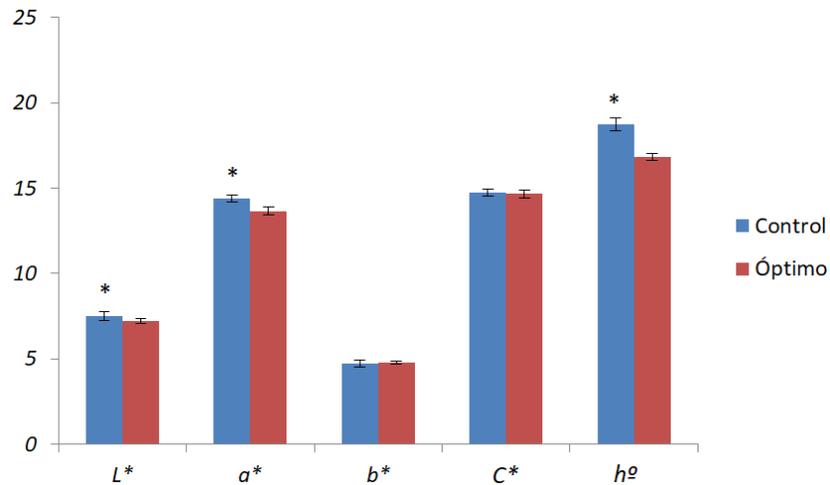


Figura 21. Color del residuo de betabel tratado por ultrasonido y control. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre muestras.



Figura 22. Color superficial del residuo de betabel a) control y b) óptimo ultrasonificado.

7.9 Bioaccesibilidad intestinal *in vitro*

7.9.1 Compuestos fenólicos y betalaínas

Para la comparación de la fracción bioaccesible, solo se determinó en el residuo óptimo ultrasonificado y en la muestra control. Los resultados de betalaínas se pueden apreciar en la Figura 23a-b, en donde el residuo óptimo ultrasonificado fue mayor significativamente ($p < 0.05$) en betaninas (45.28 ± 2.59 mg EB/100 g bs) y betaxantinas (22.73 ± 1.62 mg EI/100 g bs) que la muestra control (39.08 ± 0.67 mg EB/100 g bs y 19.46 ± 0.25 mg EI/100 g bs respectivamente). A pesar de ello, la absorción fue baja, del 5 y 4 % respectivamente. Estudios en extractos de betabel resaltan que el contenido de betaninas es más alto y con mejor poder antioxidante que el de las betaxantinas (Esaltbeyoglu *et al.*, 2015; Stintzing y Carle, 2007). Tesoriare *et al.* (2013), compararon las tasas de absorción de betaninas provenientes de tuna roja y betabel en un modelo simulado *in vitro* de la pared intestinal, donde mostraron que el transporte epitelial era mucho menor cuando los compuestos se derivaban del betabel, manifestando que la tasa de absorción fue inhibida por su matriz alimenticia.

Se ha reportado que las betaninas se isomerizan en el medio intestinal, pasando a ser isobetaninas, las cuales podrían ser el metabolito principal absorbido después de la ingestión de betaninas (Clifford *et al.*, 2017). Además de la isomerización, hay otros procesos metabólicos que podrían degradar las betaninas y limitar su biodisponibilidad sistémica, incluida la actividad de la enzima glucosidasa proveniente de la celulasa o la presencia de la enzima pancreática, amilasa (Kanner, Harel y Granit, 2001; Tesoriare *et al.*, 2013).

Respecto a los CFT, la muestra control exhibió una cantidad mayor significativamente de fenoles (54.43 ± 0.58 EAG/100 g bs) en la fracción bioaccesible en comparación con el residuo óptimo ultrasonificado (41.75 ± 0.90 EAG/100 g bs), teniendo una absorción del 12% (Figura 23c). Este comportamiento es opuesto a lo reportado en un extracto de zarzamora ultrasonificado y en cáscara de granada, con porcentaje de absorción de 68 y 85%, respectivamente (Zafra, 2019; Fawole y Opara, 2016). El consumo de alimentos ricos en algunos nutrientes o compuestos

bioactivos no garantiza su biodisponibilidad en el tracto digestivo, por lo tanto, su efecto biológico no está asegurado (Parada y Aguilera, 2007). La baja absorción presentada se puede atribuir, a que durante o después del proceso de ultrasonido, los compuestos fenólicos pueden sufrir cambios en su conformación estructural provocando un descenso en la absorción (McDougall *et al.*, 2005; Dutra *et al.*, 2017; Quirós-Sauceda *et al.*, 2014).

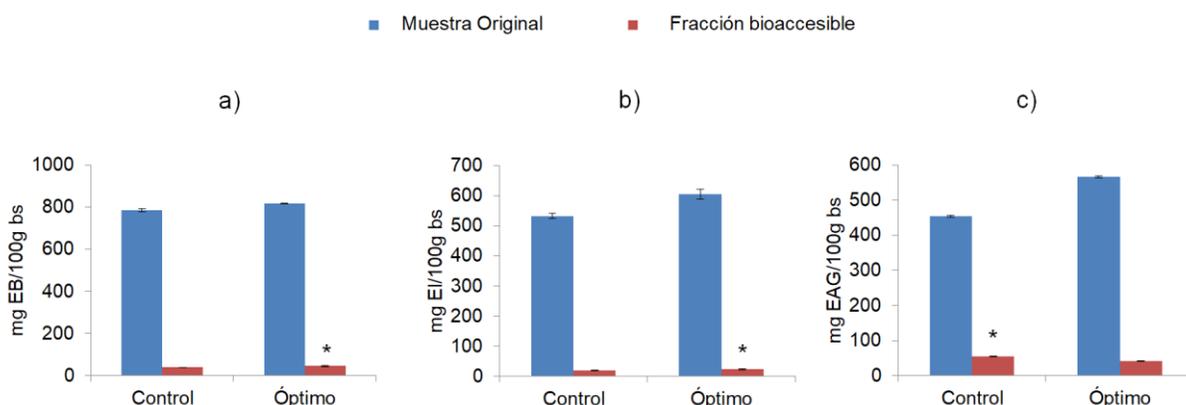


Figura 23. Compuestos antioxidantes de betaninas (a), betaxantinas (b) y contenido fenólico total (c) del residuo de betabel en la muestra control y el óptimo ultrasonificado antes y después del proceso de bioaccesibilidad. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

7.9.2 Actividad antioxidante

En relación a la actividad antioxidante y quelante, los valores por el método de ABTS y actividad quelante (Figura 24a y d) fueron mayores ($p < 0.05$) en el residuo de betabel ultrasonificado ($833.20 \pm 12.11 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ y $41.63 \pm 0.23\%$, respectivamente), en relación al control ($782.58 \pm 21.72 \mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ y $40.66 \pm 0.08\%$, respectivamente) reteniendo una absorción del 96 % en ABTS y en quelante alcanzó hasta un 123%. Este comportamiento es debido a las reacciones de transferencia de electrones y de agentes quelantes o metales de transición que influyen en la reducción de radicales libres y de iones hierro, producido por la suma de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y betalaínas (Schmidt y Pokorny, 2004; Foti y Ruberto, 2001). Respecto a DPPH (Figura 24b), no se encontró diferencia

significativa ($p>0.05$) entre las muestras (336.38 ± 20.12 y 347.62 ± 19.8 $\mu\text{mol ET}/100$ g bs respectivamente), mientras que para FRAP (Figura 24c), el control (10.41 ± 0.27 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ g bs) mostró una elevada actividad significativa ($p<0.05$) en comparación con el residuo óptimo ultrasonicado (7.66 ± 0.25 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ g bs), siendo su absorción del 14%. La baja bioaccesibilidad se puede atribuir a que la mayoría de los compuestos bioactivos no son extraíbles, ya que permanecen en la fracción no digerible de los alimentos, y por ende, no logran atravesar la barrera intestinal (Saura-Calixto *et al.*, 2007). Williamson y Manach (2005) mencionan que hay dos posibles rutas en la metabolización de estos compuestos, una es la absorción intacta de polifenoles a través del epitelio del colon y el paso al torrente sanguíneo y dos, la descomposición de la estructura original a metabolitos secundarios. Se estima que alrededor del 48 % de los polifenoles totales provenientes de alimentos sólidos de origen vegetal incluidos en la dieta se absorben en el intestino (Saura-Calixto *et al.*, 2007).

Respecto al bajo porcentaje de bioaccesibilidad de FRAP después del proceso digestivo, se debió probablemente al descenso de los antioxidantes como se habló anteriormente, además de los cambios de pH que existen en el proceso digestivo, que suprimen o acrecientan la actividad de los compuestos fenólicos y betalaínas (Kamiloglu *et al.*, 2014); los cuales en este estudio no tuvieron gran estabilidad, por lo que no ejercieron poder antioxidante reductor sobre el Fe^{+3} (oxidante) (Benzie *et al.*, 1996).

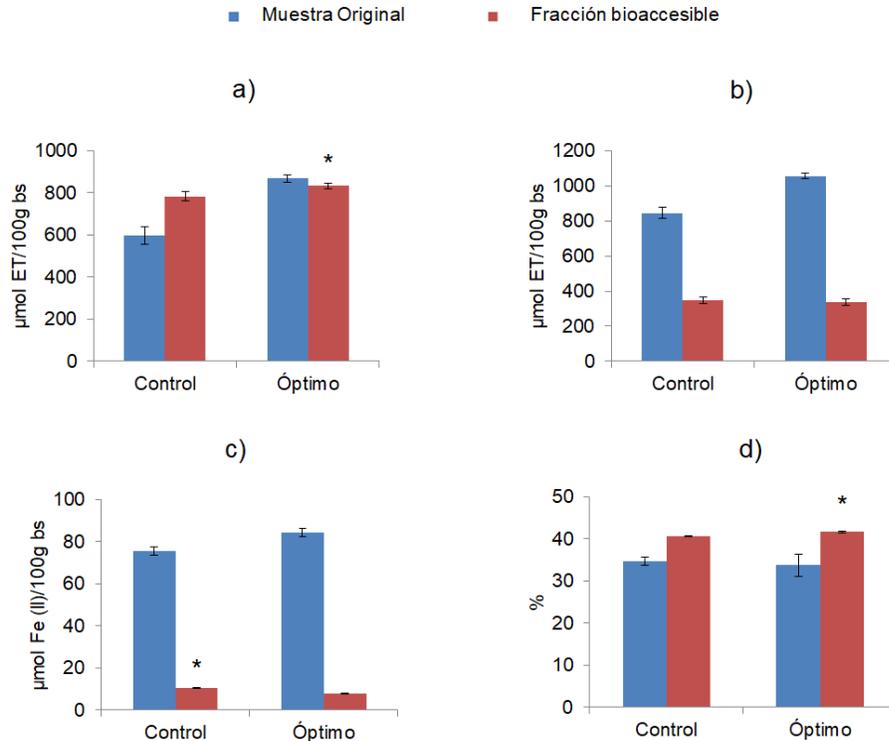


Figura 24. Actividad antioxidante por ABTS (a), DPPH (b), FRAP (c) y quelante (d) del residuo de betabel en la muestra control y el óptimo ultrasonicado antes y después del proceso de bioaccesibilidad. * Indica diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

7.10 Comparación de los diferentes métodos de extracción

El método de extracción propuesto (ultrasonido a 77.5%/9min), se comparó con 3 diferentes métodos de extracción convencionales (agua, solvente y agua/solvente) y una muestra sin tratamiento (control), los resultados se presentan en la Tabla 15. La extracción con agua fue la que tuvo mayor valor de betalaínas (betaninas y betaxantinas) en relación a las demás muestras, atribuyéndose a que son compuestos solubles en agua (Azeredo, 2009). El tratamiento de ultrasonido óptimo mostró un incremento en el contenido fenólico total en comparación con la extracción con etanol y agua/etanol. Igualmente, Zafra *et al.*, (2016) reportó en un residuo de zarzamora que la muestra tratada por ultrasonido fue la más eficaz significativamente ($p < 0.05$) en comparación con las extracciones acuosa y alcohólica. La aplicación del ultrasonido ayuda a liberar compuestos fenólicos que permanecen en los residuos (polifenoles no extraíbles), que están asociados a macromoléculas como la fibra

(Pérez-Jiménez *et al.*, 2013) a través de la ruptura de las paredes celulares biológicas y de los enlaces que forman los ácidos fenólicos con otros compuestos como polisacáridos (Dolatowski *et al.*, 2007; Soria y Villamiel, 2010). Esto se puede ver en la Figura 17. La extracción con agua exhibió los valores más altos significativamente ($p < 0.05$) en ABTS, DPPH y FRAP, seguido del ultrasonido, quien además reportó mejor actividad quelante similar al control ($p < 0.05$) en comparación a las demás extracciones. El aumento de la actividad antioxidante en la extracción por ultrasonido se atribuye a los compuestos fenólicos que están involucrados en la captación de radicales libres y a los iones metálicos pro oxidantes que se liberan durante el tratamiento de ultrasonido. Además, la actividad antioxidante de los flavonoides se puede intensificar por la elevación del grado de hidroxilación de moléculas debido a los radicales $\bullet\text{OH}$ formados en el procesamiento de ultrasonido (Ashokkumar *et al.*, 2008).

Tabla 15. Capacidad y actividad antioxidante en los diferentes métodos de extracción.

Método de extracción	Betalaínas		Contenido fenólico total (mg EAG/100 g bs)	ABTS ^{••} (μmol ET/100 g bs)	DPPH [•] (μmol ET/100 g bs)	FRAP (μmol Fe (II)/100 g bs)	Quelante (%)
	Betaninas (mg EB/100 g bs)	Betaxantinas (mg EI/100 g bs)					
Control	785.12±8.46 ^c	532.47±9.11 ^c	453.49±2.25 ^b	597.66±42.04 ^c	844.71±31.28 ^c	75.59±2.11 ^c	34.77±0.98 ^a
Ultrasonido óptimo	816.11±2.20 ^b	604.65±15.93 ^b	566.67±3.08 ^a	868.32±17.72 ^b	1056.57±14.13 ^b	84.45±1.91 ^b	33.75±2.68 ^a
Agua	1069.28±20.33 ^a	836.38±17.71 ^a	125.20±0.66 ^e	1221.97±14.74 ^a	1928.70±86.13 ^a	116.19±0.98 ^a	31.43±2.74 ^b
Etanol	0.15±0.00 ^e	1.45±0.03 ^e	237.38±4.43 ^c	486.09±6.41 ^d	842.49±28.65 ^c	15.59±0.29 ^e	10.17±0.37 ^d
Agua/etanol	113.29±1.98 ^d	75.13±1.52 ^d	132.67±1.70 ^d	32.83±3.19 ^e	159.21±14.98 ^d	22.41±0.28 ^d	19.38±0.25 ^c

^{a-e} Letras superíndices diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los métodos de extracción.

8 Conclusiones

La aplicación de ultrasonido en los diferentes tratamientos disminuye la carga microbiana de mesófilos aerobios y enterobacterias. Existe una reducción de color en comparación con la muestra original, sin embargo, se observa un aumento en la viscosidad y en la capacidad de retener agua y lípidos. En cuanto al contenido de compuestos bioactivos, hay un incremento de fenoles, así como de actividad antioxidante por ABTS y DPPH, que pudo haber compensado la reducción de betalaínas y ácido ascórbico. Las variables que se ajustaron al modelo matemático son viscosidad, capacidad de retención de agua y lípidos, las coordenadas b^* y $Chroma^*$ de color, betalaínas, contenido fenólico, actividad antioxidante por ABTS, DPPH, FRAP y quelante, encontrando que la condición óptima es de 77.5%/9min.

La microscopía electrónica de barrido demuestra que existe fragmentación en la estructura del residuo de betabel al aplicar el ultrasonido. Al comparar el residuo optimizado con la muestra control, se disminuye significativamente el recuento total de mesófilos aerobios, al igual que una total inactivación de enterobacterias. También presenta un aumento en cuanto a viscosidad, así como en su capacidad de retener agua y lípidos. Por otro lado, presenta una baja bioaccesibilidad *in vitro* en el contenido de betalaínas y compuestos fenólicos, así como en la actividad antioxidante por DPPH y FRAP, a diferencia de ABTS y actividad quelante, quienes superaron el 100 % de absorción.

Por último, en la comparación de los diferentes métodos de extracción, el ultrasonido resulta ser más efectivo que las extracciones por etanol, agua/etanol y la muestra control, ya que exhibe mayores resultados en el contenido de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante.

El residuo de betabel ultrasonificado podría ser una alternativa como aditivo por ser una fuente de fibra, la cual aportaría beneficios fisiológicos por su capacidad de retener agua y lípidos como el retraso de la absorción de glucosa y colesterol en sangre, control del estreñimiento, sensación de saciedad, mantenimiento y desarrollo de la microbiota intestinal, entre otras. Además, por su contenido de betalaínas y demás compuestos bioactivos que juegan un papel importante contra enfermedades y procesos degenerativos relacionados al estrés oxidativo por su actividad antioxidante como el envejecimiento, cáncer, diabetes, hipertensión o insuficiencia renal. Estos son motivos para que su utilización sea idónea en la industria de alimentos, farmacéutica, entre otras.

9 Bibliografía

- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Lei, S., Khan, M. A. and Zeng, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984-990.
- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Wu, Z. and Zeng, X. (2014). Synergistic impact of sonication and high hydrostatic pressure on microbial and enzymatic inactivation of apple juice. *Food Science and Technology*, 59(1), 70-76.
- Adekunle, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., and O'donnell, C. P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500-507.
- Aguilar, K., Garvín, A., Ibarz, A., and Augusto, P. E. (2017). Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 375-381.
- Alighourchi, H. R., Barzegar, M., Sahari, M. A., and Abbasi, S. (2013). Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 20(4), 1705-1707.
- Amado, I. R., Franco, D., Sánchez, M., Zapata, C., and Vázquez, J. A. (2014). Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, 165, 290-299.
- American Association of Cereal Chemists Fiber Committee. (2001). The definition of dietary fiber: Report of the dietary fiber definition committee to the board of directors of the American Association of Cereal Chemists. *Cereal Foods World*, 46(3), 112-126.
- Amr, A., and Al-Tamimi, E. (2007). Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(8), 985-991.

- Anese, M., Bot, F., Panozzo, A., Mirolo, G., and Lippe, G. (2015). Effect of ultrasound treatment, oil addition and storage time on lycopene stability and *in vitro* bioaccessibility of tomato pulp. *Food Chemistry*, 172, 685-691.
- Anese, M., Mirolo, G., Beraldo, P., and Lippe, G. (2013). Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene *in vitro* bioaccessibility. *Food Chemistry*, 136(2), 458-463.
- Arias, L., Ospino, K. S., and Zapata, J. E. (2018). Elaboración de leche saborizada fortificada con hierro hémico proveniente de hidrolizados de hemoglobina bovina. *Información Tecnológica*, 29(4), 65-74.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilkh, K., and 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.
- Atamanova, S. A., Brezhneva, T. A., Slivkin, A. I., Nikolaevskii, V. A., Selemenev, V. F., and Mironenko, N. V. (2005). Isolation of saponins from table beetroot and primary evaluation of their pharmacological activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 39(12), 650-652.
- Avello, M., and Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.
- Ayala-Zavala, J. F., Rosas-Domínguez, C., Vega-Vega, V., and González Aguilar, G. A. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own byproducts: Looking for integral exploitation. *Journal of Food Science*, 75(8), R175-R181.
- Azeredo, H. M. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2365-2376.
- Bakirci, S., Dagdemir, E., Boran, O. S., and Hayaloglu, A. A. (2017). The effect of pumpkin fibre on quality and storage stability of reduced-fat set-type yogurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 180-187.

- Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Baydar, N. G., Özkan, G., and Sağdıç, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15(5), 335-339.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Bevilacqua, A., Campaniello, D., Sinigaglia, M., and Corbo, M. R. (2015). Combination of ultrasound and antimicrobial compounds towards *Pichia* spp. and *Wickerhamomyces anomalus* in pineapple juice. *Food Science and Technology*, 64(2), 616-622.
- Bi, X., Hemar, Y., Balaban, M. O., and Liao, X. (2015). The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 567-575.
- Bleve, M., Ciurlia, L., Erroi, E., Lionetto, G., Longo, L., Rescio, L. and Vasapollo, G. (2008). An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. *Separation and Purification Technology*, 64(2), 192-197.
- Botelho, L., Conceição, A., and Carvalho, V. D. (2002). Caracterização de fibras alimentares da casca e cilindro central do abacaxi 'Smooth Cayenne'. *Ciência agrotecnologia*, 26, 362–367.
- Briones-Rodríguez, E. C. (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.
- Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W., and Corke, H. (2001). Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4429-4435.

- Castellar, M. R., Obón, J. M., and Fernández-López, J. A. (2006). The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin Food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and agriculture*, 86(1), 122-128.
- Chau, C. F., and Huang, Y. L. (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2615-2618.
- Chávez, J., Chire, T., and Loaysa, L. (2002). Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú. *Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de ciencias, departamento de química. UNALM.*
- Chemat, F., Zill-e-Huma y Kamran, K. M. (2011). Applications of ultrasound in Food Technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.
- Cheung, L. M., Cheung, P. C. K., and Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81(2), 249–255.
- Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., and Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in Food processing industry: A critical review. *Food Chemistry*, 272, 154-161.
- Chua, S. C., Tan, C. P., Mirhosseini, H., Lai, O. M., Long, K., and Baharin, B. S. (2009). Optimization of ultrasound extraction condition of phospholipids from palm-pressed fiber. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 403-409.
- Clifford, T., Constantinou, C. M., Keane, K. M., West, D. J., Howatson, G., and Stevenson, E. J. (2017). The plasma bioavailability of nitrate and betanin from *Beta vulgaris rubra* in humans. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 1245-1254.
- Costa, M. G. M., Fonteles, T. V., de Jesus, A. L. T., Almeida, F. D. L., de Miranda, M. R. A., Fernandes, F. A. N., and Rodrigues, S. (2013). High-

intensity ultrasound processing of pineapple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 6(4), 997-1006.

- Czapski, J., Mikołajczyk, K., and Kaczmarek, M. (2009). Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59(2), 119-122.
- Cruz-Cansino, N. D. S., Montiel-Columna, N. I., Bautista-Velúeta, P. G., Pérez-Tinoco, M. R., Alanís-García, E., and 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., Ramírez-Moreno, E., León-Rivera, J. E., Delgado-Olivares, L., Alanís-García, E., Ariza-Ortega, J. A. and 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.
- De Zwart, F. J., Slow, S., Payne, R. J., Lever, M., George, P. M., Gerrard, J. A., and Chambers, S. T. (2003). Glycine betaine and glycine betaine analogues in common Foods. *Food Chemistry*, 83(2), 197-204.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., and Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
- Deng, G. F., Xu, D. P., Li, S., and Li, H. B. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from sugar apple (*Annona squamosa* L.) peels using response surface methodology. *Molecules*, 20(11), 20448-20459.
- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., and Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in Food Technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 88-99.

- Dongowski, G., Drzikova, B., Senge, B., Blochwitz, R., Gebhardt, E., and Habel, A. (2005). Rheological behaviour of β -glucan preparations from oat products. *Food Chemistry*, 93(2), 279-291.
- Dürüst, N., Sümengen, D., and Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of Foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085-2087.
- Dutra, R. L. T., Dantas, A. M., de Araújo Marques, D., Batista, J. D. F., de Albuquerque Meireles, B. R. L., de Magalhães Cordeiro, Â. M. T. and Borges, G. D. S. C. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 100, 650-657.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of Food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2), 411-421.
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B., and Rimbach, G. (2015). Betanin—A Food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(1), 36-47.
- Escarpa, A., and González, M. C. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427(1), 119-127.
- Food and Agriculture (FAO) Data. (2017). Recuperado de: <http://www.fao.org/faostat/en/#search/beetroot> Acceso: 20/08/18.
- FAO/OMS. (2006). Combined compendium of Food additive specifications. Monograph 1. Beet Red. Recuperado de: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-052.pdf> Acceso: 20/09/19.
- Fardet, A. (2013). Whole grains from a mechanistic View. Recuperado de: <https://www.aaccnet.org/publications/plexus/cfwplexus/library/books/Documents/WholeGrainsSummit2012/CPLEX-2013-1001-01B.pdf>. Acceso: 27/01/20

- Fawole, O. A., and Opara, U. L. (2016). Stability of total phenolic concentration and antioxidant capacity of extracts from pomegranate co-products subjected to in vitro digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 358.
- Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., de Miranda, M. R. A., Fernandes, F. A. N., and Rodrigues, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters. *Food Research International*, 48(1), 41-48.
- Foti, M., and Ruberto, G. (2001). Kinetic solvent effects on phenolic antioxidants determined by spectrophotometric measurements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 342-348.
- Francis, F. J. (1980). Color quality evaluation of horticultural crops. *Hort Science*, 15, 58-59.
- Gamiz, E., Soriano, M., Delgado, G., Parraga, J., and Delgado, R. (2017). Estudio morfológico de talcos con microscopio electrónico de barrido (SEM). Aplicaciones farmacéuticas. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 43(1-2), 173-185.
- Gandía-Herrero, F., Escribano, J., and García-Carmona, F. (2012). Purification and antiradical properties of the structural unit of betalains. *Journal of Natural Products*, 75(6), 1030-1036.
- García, M., Cabral, F. A., and Correa, H. A. M. (2012). Dióxido de carbono supercrítico y etanol presurizado como solventes en la extracción de compuestos antioxidantes presentes en la piel de mango (*Mangifera indica* L.). *Acta Agronómica*, 61(5), 85-86.
- García, P., Bretón, L., de la Cuerda, C., and Cambor, M. (2003). Apuntes sobre la fibra. *Novartis Medical Nutrition*, 21(2), 2-11.
- García, F. P., Kerstup, S. F., Gutiérrez, A. R., Marzo, M. M., and Cruz, E. P. (2008). Caracterización físicoquímica de semillas de Opuntias (*O. Imbricata* sp y *O. Matudae* sp) cultivadas en el estado de Hidalgo, México. *Revista Institucional Universidad tecnológica del Chocó*, 27(1), 76-84.

- Garzón, T. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 22(3), 330-338.
- Genovese, D. B., and Lozano, J. E. (2006). Contribution of colloidal forces to the viscosity and stability of cloudy apple juice. *Food Hydrocolloids*, 20(6), 767-773.
- González, A. D., Kafarov, V., and Guzmán Monsalve, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de lípidos en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *Prospectiva*, 7(2), 35-36.
- Gutiérrez Zavala, Á., Ledesma Rivero, L., García García, I., y Grajales Castillejos, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1), 12-12.
- Guillon, F., and Champ, M. (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33(3-4), 233-245.
- Gülcin, İ., Buyukokuroglu, M. E., and Kufrevioglu, O. I. (2003). Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 34(4), 278-281.
- Gutierrez, T., Hoyos, O., y páez, M. (2007). Determinación del contenido de ácido Ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana L.*), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 5(1), 70-79.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. and Carle, R. (2004a). Impact of thermal treatment on colour and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris L.*) preparations. *Journal of Food Science*, 69(6), C491–C498.
- Herceg, Z., Lelas, V., Jambrak, A. R., Vukušić, T., and Levaj, B. (2013). Influence of thermo-sonication on microbiological safety, color and anthocyanins content of strawberry juice. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4(1), 26-37.

- Hernández, T., and Monter, A. (2017). Efecto del termoultrasonido sobre propiedades de la leche e inactivación de aflatoxina M1 durante el almacenamiento (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. pp. 70-75.
- Herrero, A. M., and de Avila, M. R. (2006). Innovaciones en el proceso de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina*, 50(4), 71-74.
- Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y. and Ma, H. (2017). Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144-149.
- Ignat, I., Volf, I., and Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Jastrebova, J., Witthöft, C., Grahn, A., Svensson, U., and Jägerstad, M. (2003). HPLC determination of folates in raw and processed beetroots. *Food Chemistry*, 80(4), 579-588.
- Jing, P., and Giusti, M. M. (2005). Characterization of anthocyanin-rich waste from purple corncoobs (*Zea mays L.*) and its application to color milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8775-8781.
- Joslyn, M. A. (1961). Physiological and enzymological aspects of juice production. *Fruit and Vegetable Juice*, 64-115.
- Juraga, E., Sobota Šalamon, B., Herceg, Z., and Režek Jambrak, A. (2011). Application of high intensity ultrasound treatment on Enterobacteriae count in milk. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 61(2), 125-134.
- Juszczak, L., Witczak, M., Fortuna, T., and Solarz, B. (2010). Effect of temperature and soluble solids content on the viscosity of beetroot (*Beta vulgaris*) juice concentrate. *International Journal of Food Properties*, 13(6), 1364-1372.

- Kale, R. G., Sawate, A. R., Kshirsagar, R. B., Patil, B. M., and Mane, R. P. (2018). Studies on evaluation of physical and chemical composition of beetroot (*Beta vulgaris L.*). *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 2977-2979.
- Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., and Capanoglu, E. (2014). Evaluating the in vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant activity during consumption of dried fruits with nuts. *Food Science and Technology*, 56(2), 284-289.
- Kanner, J., Harel, S., and Granit, R. (2001). Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5178-5185.
- Kezi, J., and Sumathy, J. H. (2014). Betalain a boon to the food industry. *Discovery*, 20, 51-58.
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., and Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis L.*) peel. *Food Chemistry*, 119(2), 851-858.
- Koshani, R., Ziaee, E., Niakousari, M., and Golmakani, M. T. (2015). Optimization of thermal and thermosonication treatments on pectin methyl esterase inactivation of sour orange juice (*Citrus aurantium*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 567-573.
- Kramer, M., Sennhenn, B., and Lee, G. (2002). Freeze-drying using vacuum-induced surface freezing. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(2), 433-443.
- Krešić, G., Lelas, V., Jambrak, A. R., Herceg, Z., and Brnčić, S. R. (2008). Influence of novel Food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 87(1), 64-73.
- Kruus, P. (2000). Sonochemical formation of nitrate and nitrite in water. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7(3), 109-113.

- Kubo, M. T. K., Augusto, P. E., and Cristianini, M. (2013). Effect of high pressure homogenization (HPH) on the physical stability of tomato juice. *Food Research International*, 51(1), 170-179.
- Kyrø, C., Skeie, G., Dragsted, L. O., Christensen, J., Overvad, K., Hallmans, G., and Halkjær, J. (2011). Intake of whole grains in Scandinavia is associated with healthy lifestyle, socio-economic and dietary factors. *Public Health Nutrition*, 14(10), 1787-1795.
- Lajolo, S., Wensel, D. (1998). Temas en tecnología de alimentos. Fibra dietética. México, D.F., Instituto Politécnico Nacional. 2: 29-42.
- Lee, E. H., Yeom, H. J., Ha, M. S., and Bae, D. H. (2010). Development of banana peels jelly and its antioxidant and textural properties. *Food Science and Biotechnology*, 19(2), 449-455.
- Leontowicz, M., Gorinstein, S., Leontowicz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E. and Trakhtenberg, S. (2003). Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(19), 5780-5785.
- Leopoldini, M., Russo, N., and Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.
- Li, H., Chen, B., and Yao, S. (2005). Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* Oliv. (*E. ulmoides*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 12(4), 295-300.
- Li, X., He, X., Lv, Y., and He, Q. (2014). Extraction and functional properties of water-soluble dietary fiber from apple pomace. *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), 293-298.
- López, E. V., and Cansino, N. C. (2015). Optimización del néctar de yaca (*artocarpus heterophyllus*) termoultrasonificado sobre estabilidad física y ácido ascórbico. *Educación y salud. Boletín científico de Ciencias de la Salud del*

de: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/ICSA/article/view/864>.

Acceso 05/10/18.

- Luthria, D. L., and Pastor-Corrales, M. A. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3), 205-211.
- Ma, Y. Q., Ye, X. Q., Fang, Z. X., Chen, J. C., Xu, G. H., and Liu, D. H. (2008). Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5682-5690.
- Maran, J. P., Manikandan, S., Nivetha, C. V., and Dinesh, R. (2017). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(1), S1145-S1157.
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., and 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., Riera, E., Vercet, A., and López, B. P. (2005). Application of ultrasound. In: Emerging Technologies for Food Processing. *Academic Press*, 323-351.
- Mattila, P., and Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3660-3667.
- McDonald, K., and Sun, D. W. (2000). Vacuum cooling Technology for the food processing industry: a review. *Journal of Food Engineering*, 45(2), 55-65.
- McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., and Stewart, D. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5896-5904.

- Medina-Meza, I. G., and Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Assisted extraction of bioactive compounds from plum and grape peels by ultrasonics and pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 166, 268-275.
- Meléndez, A. (2019). Evaluación fisicoquímica y bioaccesibilidad *In vitro* de antioxidantes de un yogurt bebible adicionado con residuo ultrasonificado de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. pp. 60-76.
- Mellen, P. B., Walsh, T. F. y Herrington, D. M. (2008). Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18(14), 283-290.
- Méndez, G., Antonio, M., and García, B. (2014). *Producción orgánica de betabel (Beta vulgaris L); Evaluacion de variedades y efecto de dos compostas* (tesis de ingeniería). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México. pp. 4-10.
- Merken, H. M., and Beecher, G. R. (2000). Measurement of Food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 577-599.
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 525-527.
- Molina, J. J. F., Barbosa-Cánovas, G. V., and Swanson, B. G. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos sin calor. *Arbor*, 168(661), 155-170.
- Montes, E. M., and Islán, Á. P. M. (2007). La fibra dietética procesada como alimento funcional: fomento de su consumo desde la oficina de farmacia. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 26(1), 70-77.
- Morales, F. J., and Jimenez-Perez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry*, 72(1), 119-125.

- Mudgil, D., and Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 1-6.
- Naczki, M., and Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- Nayak, C. A., Chethana, S., Rastogi, N. K., and Raghavarao, K. S. M. S. (2006). Enhanced mass transfer during solid–liquid extraction of gamma-irradiated red beetroot. *Radiation Physics and Chemistry*, 75(1), 173-178.
- Neria, R. (2015) Estudio de la optimización por termoultrasonido en la extracción de contenido de antioxidantes a partir de residuos de mango (*Mangifera indica* L.), utilizando la metodología de superficie de respuesta (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, México. pp.20-36.
- Nottingham, S. F. (2004). Beetroot. Stephen Nottingham's meticulously researched. Online book.
- Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., and Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*, 233, 96-100.
- Oyane, I., Takeda, T., Oda, Y., Sakata, T., Furuta, M., Okitsu, and 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.
- Pan, A., Lucas, M., Sun, Q., van Dam, R. M., Franco, O. H., Manson, J. E., Willett, W. C., Ascherio, A., and Hu, F. B. (2010). Bidirectional association between depression and type 2 diabetes mellitus in women. *Archives of Internal Medicine*, 170(21), 1884-1891.
- Parada, J., and Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), R21-R32.

- Pascual, M., and Calderón, V. (2000). *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. Madrid, España. Edit. Díaz de Santos. pp. 13-19.
- Patist, A. and Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the Food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9(2), 147–154
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., and Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant Foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., and Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant Foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., and Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 118-129.
- Pérez-Trejo, L., Sánchez, A. F. M., y Mercado, A. P. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin-American Journal of Physics Education*, 4(1), 36.
- Peterson, G. L. (1979). Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical Biochemistry*, 100(2), 201-220.
- Preciado, G. F. (2003). Optimización de una superficie de respuesta utilizando JMP In: *Mosaicos Matemáticos*, 11, 17-23.
- Puig, A., Perez-Munuera, I., Carcel, J. A., Hernando, I., and Garcia-Perez, J. V. (2012). Moisture loss kinetics and microstructural changes in eggplant

(*Solanum melongena* L.) during conventional and ultrasonically assisted convective drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 624-632.

- Quintanar, E. M. A. y Calderón S. J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(3), 89-101.
- Quirós-Sauceda, A. E., Palafox-Carlos, H., Sáyago-Ayerdi, S. G., Ayala-Zavala, J. F., Bello-Perez, L. A., Alvarez-Parrilla, E. and Gonzalez-Aguilar, G. A. (2014). Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food and Function*, 5(6), 1063-1072.
- Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q. Y., Arias-Rico, J., Ariza-Ortega, J. A., Alanís-García, E., and 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.
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A., Gabr, A. M., Kastell, A., Riedel, H., and Smetanska, I. (2011). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*, 50(2), 670-675.
- Rawson, K. A., and Dunlosky, J. (2011). Optimizing schedules of retrieval practice for durable and efficient learning: How much is enough? *Journal of Experimental Psychology: General*, 140(3), 283.
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., and Thibault, J. F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Food Science and Technology*, 33(2), 72-79.
- Rojas, A., and Andres, A. (2000). Extracto colorante de tuna purpura (*Opuntia ficus indica* L.): obtención y comparación con un colorante comercial de beterraga (*Beta vulgaris* var. *Hortensis* L.) (tesis de la facultad ciencias agronómicas). Universidad de Chile. pp. 9-15. En: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=BIBACL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=026795>. Acceso el 17/08/2018.

- Rojas, M. L., Leite, T. S., Cristianini, M., Alvim, I. D., and Augusto, P. E. (2016). Peach juice processed by the ultrasound Technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22-33.
- Roy, K., Gullapalli, S., Roy Chaudhuri, U., and Chakraborty, R. (2004). The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(10), 1087-1091.
- Ruberto, G., Renda, A., Daquino, C., Amico, V., Spatafora, C., Tringali, C., and De Tommasi, N. (2007). Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. *Food Chemistry*, 100(1), 203-210.
- Russell, W. R., Labat, A., Scobbie, L., Duncan, G. J., and Duthie, G. G. (2009). Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. *Food Chemistry*, 115(1), 100-104.
- Saeeduddin, M., Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Awad, F. N., ... and Zeng, X. (2015). Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. *Food Science and Technology*, 64(1), 452-458.
- Sáenz, C., Cancino, B., and Robert, P. (2012). Red betalains from *Opuntia* spp.: Natural colorants with potential applications in Foods. *Israel Journal of Plant Sciences*, 60(3), 291-299.
- Said, K. A. M., Radzi, Z., Yakub, I., and Amin, M. A. M. (2016). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid from banana peel *Musa acuminata* 'Kepok'. *IIUM Engineering Journal*, 17(1), 103-114.
- Sánchez-Zapata, E., Fernández-López, J., Peñaranda, M., Fuentes-Zaragoza, E., Sendra, E., Sayas, E., and Pérez-Alvarez, J. A. (2011). Technological properties of date paste obtained from date by-products and its effect on the quality of a cooked meat product. *Food Research International*, 44(7), 2401-2407.

- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4303-4306.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., and Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501.
- Saravanan, K., and Aradhya, S. M. (2011). Polyphenols of pseudostem of different banana cultivars and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3613-3623.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., and Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: source of antioxidant dietary fiber. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 60(1), 79-84.
- Schieber, A., Stintzing, F. C., and Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science and Technology*, 12(11), 401-413.
- Schmidt, S., and Pokorný, J. (2004). Funcionalidad de los antioxidantes naturales durante el procesado de los alimentos. En: *Antioxidantes de los alimentos: aplicaciones prácticas*. Acribia. pp. 311-334
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2016. Recuperado de: <http://sedagro.hidalgo.gob.mx/?p=6898>. Fecha de acceso: 23/11/2017. Acceso: 22/10/2018.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Recuperado de: <http://sedagro.hidalgo.gob.mx/?p=6898>. Fecha de acceso: 23/11/2017. Acceso: 22/10/2018.
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., and Ramaswamy, H. S. (2019). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *Food Science and Technology*, 101, 342-350.
- Shyamala, B. N., and Jamuna, P. (2010). Nutritional Content and Antioxidant Properties of Pulp Waste from *Daucus carota* and *Beta vulgaris*. *Malaysian Journal of Nutrition*, 16(3),9-10

- Singanusong, R., Nipornram, S., Tochampa, W., and Rattanatraiwong, P. (2015). Low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng) and lime (*Citrus aurantifolia*) peels and the antioxidant. *Food Analytical Methods*, 8(5), 1112-1123.
- Singh, B., and Hathan, B. S. (2014). Chemical composition, functional properties, and processing of beetroot-a review. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 5(1), 679-684.
- Slavov, A., Karagyozov, V., Denev, P., Kratchanova M., and Kratchanov, C. (2013). Antioxidant activity of red beet juices obtained after microwave and thermal pretreatments. *Czech Journal of Food Sciences*, 31(2), 139–147.
- Soria, A. C., and Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of Food: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(7), 323-331.
- Sorrivas, V., Morales, A., and Yañez, M. J. (2014). Principios y práctica de la microscopía electrónica. En: *Introducción, fundamentos de la microscopía electrónica*, 57-76. Online book.
- Sruthi, P. D., Anoohya, P. N., Vasu, A. T., Latha, B. S., and Chavali, M. (2014). Portrayal of red pigments extracted from red beet (*Beta vulgaris* L.) and its potential uses as antioxidant and natural Food colourants. *Journal of Science, Technology, Engineering and Mathematics (STEM)*, 2(1), 24-32.
- Stintzing, F. C., and Carle, R. (2007). Betalains—emerging prospects for food scientists. *Trends in Food Science and Technology*, 18(10), 514-525.
- Stintzing, F. C., and Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 15(1), 19-38.
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S. and Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442-451.

- Stintzing, F. C., Schieber, A., and Carle, R. (2001). Phytochemical and Nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology*, 212(4), 397-407.
- Strack, D., Wray, V., and Harborne, J. B. (1994). *The flavonoids, advances in research since 1980*. England. Springer. pp. 269-273.
- Suárez-Jacobo, A., Rüfer, C. E., Gervilla, R., Guamis, B., Roig-Sagués, A. X., and Saldo, J. (2011). Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. *Food Chemistry*, 127(2), 447-454.
- Sumaya-Martínez, M. T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J. D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Vega, C., Martínez-Cardenas, L. and Alanís-García, E. (2011). Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 6452-6468.
- Swamy, G. J., Muthukumarappan, K., and Asokapandian, S. (2018). Ultrasound for fruit juice preservation. In: *Fruit Juices*. Academic Press, 451-462.
- Tesoriere, L., Gentile, C., Angileri, F., Attanzio, A., Tutone, M., Allegra, M., and Livrea, M. A. (2013). Trans-epithelial transport of the betalain pigments indicaxanthin and betanin across Caco-2 cell monolayers and influence of Food matrix. *European Journal of Nutrition*, 52(3), 1077-1087.
- Thompson, L. J., Manore, M. M. y Vaughan, A. L. (2008). Nutrientes implicados en la función antioxidante. En: *Nutrición*. España. Pearson, 391-398.
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'donnell, C. P., and Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 41(10), 1876-1883.

- Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J., and O'donnell, C. P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(3), 598-604.
- Türken, T., and Erge, H. S. (2017). Effect of ultrasound on some chemical and microbiological properties of sour cherry juice by response surface methodology. *Food Science and Technology International*, 23(6), 540-549.
- USDA. (2018). United State Department of Agriculture. Nutrient Database. Recuperado de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/?query=beetroot>. Acceso: 22/10/2018.
- Vadivambal, R., and Jayas, D. S. (2007). Changes in quality of microwave-treated Agricultural products—a review. *Biosystems Engineering*, 98(1), 1-16.
- Valdramidis, V. P., Cullen, P. J., Tiwari, B. K., and 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(3), 449-454.
- Valencia, F. E., and Román, M. O. (2009). Physicalchemical and functional characterization of three commercial concentrates from dietary fiber. *Vitae*, 13(2). 234-235.
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Muñoz, N., Martí, N., and Lizama, V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 509-516.
- Váli, L., Stefanovits-Bányai, É. Szentmihályi, K., Fébel, H., Sárdi, É., Lugasi, A. and Blázovics, A. (2007). Liver-protecting effects of table beet (*Beta vulgaris var. rubra*) during ischemia-reperfusion. *Nutrition*, 23(2), 172-178.
- Vercet, A., Sánchez, C., Burgos, J., Montañés, L., and Buesa, P. L. (2002). The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 53(3), 273-278.
- Von Elbe, J. H., Maing, I., and Amundson, C. H. (1974). Color stability of betanin *Journal of Food Science*, 39(2), 334–337.

- Vulić, J. J., Tumbas, V. T., Savatović, S. M., Đilas, S. M., Četković, G. S., and Čanadanović-Brunet, J. M. (2011). Polyphenolic content and antioxidant activity of the four berry fruits pomace extracts. *Acta Periodica Technologica*, 42, 271-279.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Riener, J., Cronin, D. A., Lyng, J. G., and Morgan, D. J. (2009). The impact of thermosonication and pulsed electric fields on *Staphylococcus aureus* inactivation and selected quality parameters in orange juice. *Food and Bioprocess Technology*, 2(4), 422-423.
- Wang, J., Zhao, Y. M., Tian, Y. T., Yan, C. L., and Guo, C. Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds from *Inula helenium*. *The Scientific World Journal*, 1 6-7.
- Wang, L., and Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17(6), 300-312.
- World Health Organization. (2003). *Diet, Nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation* (Vol. 916). World Health Organization.
- Williamson, G., and Manach, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 243S-255S.
- Yashwant, K. (2015). Beetroot: A Super Food. *IJESTA*, 1, 20-26.
- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villanueva-Sánchez, J., and Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.
- Zafra-Rojas, Q., Cruz-Cansino, N., Quintero-Lira, A., Gómez-Aldapa, C., Alanís-García, E., Cervantes-Elizarrarás, A., Güemes-Vera, N., and Ramírez-Moreno, E. (2016). Application of ultrasound in a closed system: optimum condition for antioxidants extraction of blackberry (*Rubus fruticosus*) residues. *Molecules*, 21(7), 950-951.

- Zhao, Y., Hou, Y., Tang, G., Cai, E., Liu, S., Yang, H. and Wang, S. (2014). Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Epimedium brevicornum* maxim using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activities in vitro. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 4-5.
- Zhao, L., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., and Hu, X. (2006). Different effects of microwave and ultrasound on the stability of (all-E)-astaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21), 8346-8351.
- Zhang, W., Zhao, X., Sun, C., Li, X., and Chen, K. (2015). Phenolic composition from different loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars grown in China and their antioxidant properties. *Molecules*, 20(1), 542-555.
- Zou, D. M., Brewer, M., Garcia, F., Feugang, J. M., Wang, J., Zang, R., Huaguang, L., and Zou, C. (2005). Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 4(1), 25-26.
- Zou, Y., and Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology*, 36(1), 111-115.
- Zou, T. B., Wang, M., Gan, R. Y., and Ling, W. H. (2011). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3006-3017.
- Zou, T. B., Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., and Li, H. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves using response surface methodology. *Molecules*, 19(2), 1411-1421.
- Zvitov, R., and Nussinovitch, A. (2005). Low DC electrification of gel-plant tissue 'sandwiches' facilitates extraction and separation of substances from *Beta vulgaris* beetroots. *Food Hydrocolloids*, 19(6), 997-1004.