



Universidad Autónoma del estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias de la Salud

Área Académica de Nutrición

"Evaluación microbiológica, fisicoquímica y antioxidante de un smoothie a base de bebida vegetal de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) termoultrasonificado"

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN NUTRICIÓN

PRESENTA

P.L.N Andrea Monserrath Hidalgo Morales

No. de cuenta: 325341

Bajo la dirección de:

Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino

Profesor de tiempo completo del Instituto de Ciencias de la Salud

Codirector:

Dr. Ernesto Alanís García

Profesor de tiempo completo del Instituto de Ciencias de la Salud

Pachuca de Soto, Hgo. Septiembre 2021



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



De acuerdo con el artículo 40 y 43 del Reglamento de Titulación vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión el trabajo de la Tesis titulada:

"Evaluación microbiológica, fisicoquímica y antioxidante de un smoothie a base de bebida vegetal de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) termoultrasonicado"

Que para obtener el Título de Licenciada de Nutrición en la modalidad "Elaboración de tesis mediante examen recepcional" sustenta la Pasante

C. Andrea Monserrath Hidalgo Morales

ATENTAMENTE
Pachuca de Soto, Hidalgo, 7 de septiembre de 2021
"Amor, Orden y Progreso"

PRESIDENTE:	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
SECRETARIO:	DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA
PRIMER VOCAL:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
SUPLENTE	DRA. ARACELI ORTIZ POLO

“La dirección que tomes es más importante que la velocidad con la que llegues”

Quisiera comenzar por agradecerme a mí, por elegir este camino que me reto, me hizo salir de mi zona de confort y me permitió conocer cuál es mi potencial y también analizar lo que académicamente me gusta y lo que no, también. Muchas gracias Monserrath por lograr concluir este camino, sé que en el futuro harás más cosas que te reten.

A mis padres, abuelitos y tíos: Siempre siendo mi ejemplo a seguir, por jamás limitarme y llenarme de su sabiduría, es más que lógico decir que todo lo que soy es gracias a ustedes. Por su fe y amor hacia mí y el entusiasmo, cada que quería rendirme y me soltaba en llanto. Gracias César y Geidy espero que esta tesis sea una forma de honrarles y decirles que estoy orgullosa de tenerlos como padres, gracias por todo su esfuerzo para que tengamos lo mejor, cada día trabajare duro en ser como ustedes. Gracias a mis abuelitos César, Genaro, Ernestina y Oralia son los seres que más amo en este mundo, siempre están presentes cada día de mi vida, recordándome que puedo y lo lograre.

A mis hermanos Abigail, Cristian, Andrés y Nadyne por darme ánimos, llenarme de su cariño, paciencia y amor, espero que esta pequeña parte que culmina de mi vida como nutrióloga los anime a trabajar duro para ser excelentes en el camino que elijan y hacerles saber que siempre estaré cuidando de ustedes. Gracias a Karmin por interesarse en todo lo que hago, escucharme y formar parte de mi familia, le tengo un profundo cariño, respeto y admiración. También gracias a Yani por ayudarme a buscar opciones, creer en mí, quererme tanto y ayudarme a abrirme camino profesionalmente, siempre estaré agradecida y orgullosa de ti. A Dulce Yatzira, gracias por ayudarme, escucharme y ser mi alma gemela, sé que juntas lograremos lo que anhelamos.

A mi directora de tesis, la Doctora Nelly del Socorro Cruz Cansino por darme la oportunidad de trabajar con ella, es una excelente persona, le agradezco todo el apoyo, paciencia y por enseñarme tanto, ahora comprendo que me ha llenado de aptitudes que me permitirán ser una mejor profesionista. La admiro y deseo llegar a ser tan excelente como usted. A mi codirector el Dr. Ernesto Alanís García por su tiempo, apoyo y paciencia, le admiro.

A mis amigas y su familia: No hace falta mencionar sus nombres porque ustedes saben quién son, por apoyarme en todo el transcurso de este proceso, por tomarse el tiempo de escucharme, tratar de entender lo que hacía, desvelarse conmigo ayudándome a mejorar mi tesis, darme un espacio en su hogar para trabajar, por sus consejos y por ayudarme a tenerme paciencia a mí misma. Gracias por creer en mí siempre, deseo tenerlas en mi vida por siempre como hasta ahora. Gracias a mi prima Dayra persona que amo profundamente y admiro.

Mi familia en el laboratorio (pasantes de licenciatura, maestría y doctorado) por donde comenzar, cada uno de ustedes me hizo comprender tantas cosas, son las personas que más admiro y sin su ayuda esta tesis no sería posible. Los momentos de convivencia fueron lo mejor, los días que se quedaron hasta tarde para ayudarme, cuando repitieron mil veces la explicación de alguna determinación o procedimiento tan solo para que lo entendiera bien. Por siempre darme soluciones cuando lo único que veía era un imposible. Desde el día 1 me hicieron sentir cómoda, querida, escuchada y comprendida. Me llena el corazón de alegría verlos crecer en todos los aspectos. No solo son mis compañeros, ahora son mi familia.

Por último y no menos importante a Román de Jesús Martínez Mercado por elegir estar a mi lado en cada momento, por ser mi hogar y mi compañero de vida. La mayoría del tiempo no comprendías lo que hacía sin embargo siempre me dabas soluciones y juntos mejorábamos este proyecto de tesis. Eres el principal nutriólogo que admiro por su inteligencia y por tu amor a lo que haces, eres grande y con quien siempre estaré feliz de estar.

A todos aquellos que utilicen esta tesis, espero sea una guía para mejorar futuros trabajos y nunca dejen de lado el camino de la ciencia, por muy pequeño que crean que sea su aporte, todo nutriólogo debería estar en este campo sin importar el área que elija, la investigación nos ayudará y ayudará a otros.

Índice general	
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. Marco Teórico	3
1.1 Semilla de cáñamo.....	3
1.1.1 Morfología.....	3
1.1.2 Composición nutricional de la semilla de cáñamo	4
1.1.3 Bebida vegetal	5
1.2 Smoothie y sus componentes	7
1.3 Alimentos funcionales	9
1.4 Beneficios de compuestos bioactivos en la salud	9
1.5 Tratamientos térmicos de bebidas de frutas y vegetales.	11
1.5.1 Pasteurización	11
1.5.2 Ultrasonido.....	12
1.5.3 Termoultrasonido	13
2. Planteamiento del problema.....	14
3. Justificación.....	15
4. Objetivos	16
4.1 Objetivo general	16
4.2 Objetivos específicos	16
5. Diseño metodológico	17
5.1 Tratamientos por termoultrasonido en smoothie.....	18
5.2 Diseño experimental	19
5.3 Obtención de la materia prima	20
5.4 Elaboración de bebida vegetal	21
5.5 Elaboración de smoothie.....	21
5.6 Análisis microbiológico	21
5.7 Propiedades fisicoquímicas	22
5.7.1 Determinación de pH	22
5.7.2 Sólidos solubles totales (SST)	22
5.7.3 Acidez titulable.....	22
5.7.4 Estabilidad	23
5.7.5 Color	23

5.7.6 Viscosidad	24
5.8 Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante	24
5.8.1 Método de extracción para antioxidantes	24
5.8.2 Determinación de betalaínas	25
5.8.3 Determinación de contenido de fenoles	25
5.9 Determinación de actividad antioxidante	26
5.9.1 Actividad antioxidante por ABTS ^{•+}	26
5.9.2 Actividad antioxidante por DPPH [•]	27
6. Resultados y discusión	27
6.1 Microbiología	27
6.2 Propiedades fisicoquímicas	28
6.2.1 pH	30
6.2.2 Sólidos solubles totales (SST)	30
6.2.3 Acidez titulable (AT)	32
6.2.4 Índice de estabilidad	32
6.2.5 Viscosidad	33
6.2.6 Color	34
6.3 Contenido de compuestos bioactivos	39
6.3.1 Betalaínas	39
6.3.2 Contenido de fenoles	41
6.4 Actividad antioxidante por ABTS y DPPH	44
6.5 Optimización del proceso de termoultrasonido del smoothie	47
7. Conclusiones	49
8. Perspectivas futuras	51
9. Referencias bibliográficas	52

Índice de tablas

Tabla 1. Composición nutricional de semilla de cáñamo (<i>Cannabis sativa</i> L.)	5
Tabla 2. Composición nutrimental (gramos) de diferentes bebidas vegetales de cáñamo en 100 mL	7
Tabla 3. Diseño experimental de tratamiento de termoultrasonido	19
Tabla 4. Efecto de la amplitud y tiempo del smoothie termoultrasonificado sobre mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB)	28
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de un smoothie	29
Tabla 6. Efecto de amplitud y tiempo de termoultrasonido en el smoothie sobre las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*), y Hue. Croma 35	
Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre contenido y propiedades antioxidantes	40
Tabla 8. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de contenido fenólico total y actividad antioxidante del smoothie termoultrasonificado.	42
Tabla 9. Valores de predichos por el modelo de superficie de respuesta	47
Tabla 10. Composición nutricional de una bebida tipo smoothie termoultrasonificado	49

Índice de figuras

Figura 1. Herbácea de <i>Cannabis sativa</i> L.(a),	4
Figura 2. Obtención de la bebida vegetal y smoothie.....	17
Figura 3. Determinaciones en el smoothie.....	18
Figura 4. Espacio de color CIE L^* a^* b^* (CIELAB). CTRL: control; TUS: termoultrasonificado.	38
Figura 5. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos totales del smoothie.	42
Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del smoothie medida por el método de ABTS (a) y DPPH (b).....	46
Figura 7. Traslape de figuras de contorno de las variables de respuesta en la optimización por termoultrasonido del smoothie.	48

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Cálculo del modelo polinomial.....	20
Ecuación 2. Porcentaje de acidez titulable.....	22
Ecuación 3. Porcentaje de estabilidad.....	23
Ecuación 4. Croma (C)	23
Ecuación 5. Hue (°h).....	24
Ecuación 6. Contenido de betalaínas	25

Glosario de abreviaturas

ABTS•+: 2,2'-Azino-bis (3-
etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)
AOAC: Association of Official
Analytical Chemist
AT: Acidez Titulable
C*: Cromaticidad
CFT: Contenido de Fenoles Totales
DPPH•: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAG: Equivalente de Ácido Gálico
EB: Enterobacterias
ET: Equivalente de Trolox
L*: Luminosidad
Log UFC/mL: Logaritmo de Unidades
Formadoras de Colonia por Mililitro
MA: Mesófilos Aerobios
NaCl: Cloruro de Sodio
NaOH: Hidróxido de Sodio
OH•: Hidroxilo
p/v: Peso sobre Volumen
PCA: Agar para Métodos Estándar
PME: Pectinmetilesterasa
RSM: Response Surface Methodology
SST: Sólidos Solubles Totales
VRBG: Agar Bilis Rojo Violeta

Unidades de medida

°C: Grados Celsius
°h: Hue
µL: microlitro
µmol: micromol
cP: centipoise
g: gramos
M: molar
mg: miligramos
min: minutos
mL: mililitro
mm: milímetro
mM: milimolar
rpm: revoluciones por minuto

RESUMEN

El smoothie es un producto que combina diferentes elementos como verduras, frutas, leche o bebidas vegetales con el fin de obtener una bebida práctica de características sensoriales agradables que aporte beneficios a la salud. Recientemente el uso de semilla de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) ha generado interés por las propiedades nutricionales que posee (proteínas, aminoácidos esenciales y ácidos grasos). Por ello, su introducción como base de una bebida, sería novedoso por los beneficios nutricionales que aporta junto con la zarzamora y el residuo de betabel (productos altos en compuestos bioactivos), y la utilización de una tecnología emergente como el termoultrasonido el cual libera compuestos bioactivos, así como también disminuye la carga microbiana del producto. El objetivo del presente trabajo fue obtener un smoothie a base de bebida vegetal de semilla de cáñamo con zarzamora y residuo de betabel tratado con termoultrasonido para evaluar las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes. Se utilizaron las variables de amplitud (30-90%) y tiempo (3-15 min) mediante el programa JMP. El smoothie termoultrasonificado presentó reducción de mesófilos aerobios y enterobacterias (1.85 y 2.42 log UFC/mL, respectivamente). Se obtuvo un aumento en acidez titulable (0.47 a 1.07), índice de estabilidad (58.89 a 70.16), croma, contenido fenólico total (CFT) (26.55-30.53) y una disminución para sólidos solubles totales, viscosidad, y en las coordenadas de color L^* , a^* y b^* y Hue. Las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático ($R^2 \geq 0.90$) fueron CFT y actividad antioxidante por ABTS y DPPH. La condición óptima de proceso de termoultrasonido fue de 62.5% de amplitud durante 15 minutos (28.28 mg EAG/100 mL en CFT, 28.86 y 47.14 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$ en ABTS y DPPH, respectivamente). Los resultados obtenidos mostraron que el termoultrasonido representa una excelente opción en el procesamiento del smoothie, pues existe reducción de microorganismos obteniendo un producto inocuo con mínimos cambios en las propiedades fisicoquímicas y aumento en el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.

Palabras clave: *Cannabis sativa* L., smoothie, zarzamora, residuo de betabel, antioxidantes, termoultrasonido.

ABSTRACT

The smoothie is a product that combines different elements such as vegetables, fruits, milk or vegetable drinks in order to obtain a practical drink with pleasant sensory characteristics that provides health benefits. Recently, the use of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) has generated interest due to its nutritional properties (proteins, essential amino acids and fatty acids). For this reason, its introduction as base of a drink would be novel, due to the nutritional benefits it provides together with the blackberry and beet residue (products high in bioactive compounds), and the use of an emerging technology such as thermoultrasound which releases compounds bioactive as well as decreases microbial load of product. The objective of this work was to obtain a smoothie based on a vegetable drink of hemp seeds with blackberry and beet residue treated by thermoultrasound to evaluate physicochemical and antioxidant properties. The variables of amplitude (30-90%) and time (3-15 min) were used applying JMP program. The thermoultrasonic smoothie showed a reduction of aerobic mesophiles and enterobacteria (1.85 and 2.42 log CFU / mL, respectively). There was an increase in titratable acidity (0.47 to 1.07), stability index (58.89 to 70.16), chroma, total phenolic content (TPC) (26.55-30.53) and a decrease for total soluble solids, viscosity, in L^* , a^* and b^* color coordinates and Hue. The response variables that were adjusted to the mathematical model ($R^2 \geq 0.90$) were TPC and antioxidant activity by ABTS and DPPH. The optimal process condition of thermoultrasound was 62.5% amplitude during 15 min (28.28 mg GAE / 100 mL in TPC, 28.86 and 47.14 $\mu\text{mol TE}$ / 100 mL in ABTS and DPPH, respectively). The results obtained showed that the thermoultrasound represents an excellent option in the smoothie processing, since there is a reduction of microorganisms obtaining a product innocuous with minimal changes in the physicochemical properties and an increase in the content of bioactive compounds and antioxidant activity.

Keywords: *Cannabis sativa* L., smoothie, blackberry, residue beet, antioxidants, thermoultrasound.

1. Marco Teórico

1.1 Semilla de cáñamo

El cáñamo o semilla hemp (*Cannabis sativa* L.) proviene de la planta del *Cannabis sativa*, que significa "cáñamo útil" en latín, la diferencia está en el contenido de delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) (Oomah *et al.*, 2002). Es cultivada y cosechada en China y Canadá para la obtención industrial de fibras, semillas, aceite y harina, y está generando gran interés como cultivo sostenible, ya que no requiere fertilizantes, herbicidas ni pesticidas (Vonapartis, Aubin, Seguin, Mustafa, & Charron, 2015). Los fabricantes de cáñamo en Canadá eliminan todo, excepto las últimas trazas posibles de THC de sus semillas y aceite aprobados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (Vahanvaty *et al.*, 2009).

1.1.1 Morfología

Cannabis sativa L, llamado comúnmente cáñamo, es una herbácea anual con tallo erguido no trepador, cuyo tamaño oscila entre 50 cm y 6 m de alta madurez (Fig. 1a) (Clarke, 1981). El fruto del cáñamo es un aquenio denominado comúnmente semilla (Fig. 1b) que se destina mayoritariamente a la alimentación de aves y fabricación de jabones, barnices, etc. y minoritariamente al consumo humano en forma de aceite o semilla (Imane, 2009). El fruto del cáñamo no es una semilla verdadera sino un aquenio, una nuez diminuta cubierta por una cáscara dura, que se retira cuando será destinada para consumo humano (Fig. 1c) (Small & Marcus, 2003). La cantidad de semilla producida puede incrementarse al cubrir las plantas cuando tienen una altura de 30 a 50 cm y para la producción de semillas, las plantas masculinas a veces se eliminan después de la polinización, para dejar más espacio para las plantas femeninas y de esta forma obtener la semilla para uso comestible (Mathieu, 1980).

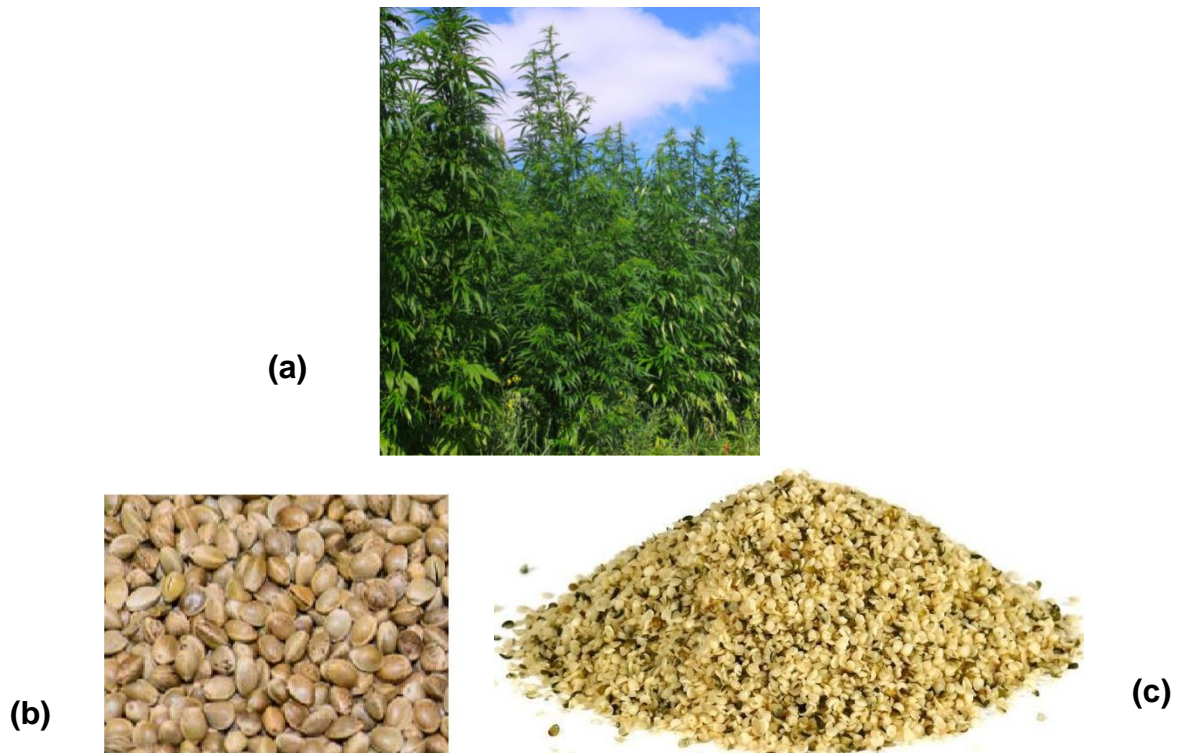


Figura 1. Herbácea de *Cannabis sativa* L.(a),
aquenio (b), semilla descascarada (c).

1.1.2 Composición nutricional de la semilla de cáñamo

En la Tabla 1 se muestra la composición nutricional de la semilla de cáñamo, contiene en mayor proporción proteínas, carbohidratos y fibra dietética total. Posee fitoesteroles, ácidos grasos esenciales ω -3 y ω -6, (Frassinetti *et al.*, 2018; House, Neufeld, y Leson, 2010).

Tabla 1. Composición nutricional de semilla de cáñamo (*Cannabis sativa* L.)

Nutriente	Cantidad presente en semilla
Proteína*	24.8%
	6.70% metionina
	6.46% leucina
Aminoácidos*	4.43% valina
	3.96% fenilalanina
	3.85 % isoleucina
	3.31% lisina
	2.84% treonina
Hidratos de carbono**	27.8%
Humedad*	6.5%
Cenizas**	5.6%
Fibra dietética total**	27.6%
Metales pesados**	15.75 Cu mg/kg
	1.50 Pb mg/kg
	55.35 Zn mg/kg

Representado en porcentaje (gramos por cada 100 g de semilla seca), a excepción de metales pesados (ppm) (mg por cada kg de semilla) *Tang *et al*, 2006; **Callaway, 2004).

La forma de consumo de esta semilla, es en la elaboración de cerveza/licor, harina sin gluten, para alimentar aves, como proteína en polvo y bebida vegetal (Vantreese, 1988).

1.1.3 Bebida vegetal

En la actualidad los consumidores demandan alternativas diferentes a la leche de vaca, esto como resultado a una intolerancia y alergia, incluyendo a la lactosa. Esta demanda también es ocasionada por parte de diferentes estilos de vida, incluidas las dietas vegetarianas y veganas o basadas en consideraciones éticas contra el consumo de leche de vaca (Jeske, Zannini y Arendt, 2016). Tecnológicamente estas bebidas son suspensiones de material vegetal disuelto y desintegrado en agua, cuya apariencia es similar a la de la leche de vaca. Se trata de extractos líquidos de

legumbres, frutos secos o cereales cuyas propiedades nutricionales dependen de la fuente vegetal y el procesado (Jeske *et al.*, 2017). En ocasiones las bebidas vegetales son llamadas erróneamente como leche, sin embargo, según el Codex General Estándar el término leche, es la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida mediante uno o más ordeños, y recomienda, por ejemplo, que el uso del término de leche de soya, se sustituya por el de bebida a base de soya (Codex alimentarius, 1996). Su agradable sabor y gran aceptabilidad, han motivado el crecimiento de su consumo por la población en general. Por su composición, muchas de estas bebidas presentan características particulares (sin lactosa y bajas en grasas saturadas), además muchas de ellas son adicionadas con vitaminas y minerales, lo que las hacen especialmente adecuadas para ciertos sectores de la población (García, 2017), que fueron explicados anteriormente.

Además de la soya, se utilizan otras fuentes vegetales para desarrollar productos que no contienen lactosa como almendras y arroz por mencionar las más comunes, sin embargo, existen otras más disponibles en el mercado (Jeske *et al.*, 2016). La composición nutricional de una bebida vegetal a base de soya es de 7 g de proteína, 5 g de grasas, 4 g de carbohidratos y 80 kcal (Vahanvaty, 2009), la bebida vegetal de arroz contiene 1 g de proteína, 2.5 g de grasas, 23 g de carbohidratos y 120 kcal, la de almendra aporta 1 g de proteína, 2.5 g de grasas, 6 g de carbohidratos y 50 kcal (Mäkinen *et al.*, 2019). Por otro lado, se tiene a la semilla de cáñamo, que no es tan conocida y a partir de esta se puede obtener una bebida vegetal con excelentes propiedades nutricionales.

La bebida vegetal de cáñamo se ha producido a partir de semillas enteras y se considera altamente nutritiva, por lo que podría ser una alternativa atractiva y extra a las bebidas vegetales comunes como lo es la soya (Vahanvaty *et al.*, 2009). Existen dos marcas comerciales que se venden de bebida vegetal de cáñamo, sin embargo, están formulados con otros ingredientes, como la marca Pacific Foods® en EU donde usan semilla de cáñamo descascarada, y contiene otros ingredientes como jarabe de arroz integral, 1% o menos, de fosfato disódico, fosfato tricálcico, vitamina D2 y goma xantana. Otra marca es la Ecomil® en España, contiene 3% de semilla

de cáñamo, aceite de cáñamo (1.3%), almidón de tapioca y como emulgente lecitina de girasol. En cuanto al contenido nutricional de las diferentes bebidas vegetales antes mencionadas se muestra en la Tabla 2, en donde se aprecia que tienen un elevado contenido de carbohidratos, por otro lado, las vitaminas que están en mayor proporción en la bebida vegetal pura de cáñamo, se encuentran vitaminas como B3 (2.4%), B1 (1.1%) y ácidos grasos como linoleico, alfa linolénico, oleico y palmítico (Mäkinen *et al.*, 2019). Además, esta bebida contiene aminoácidos esenciales como arginina (13.56%), leucina (6.78%), alanina (5.20%), isoleucina (4.07%), lisina (3.62%), metionina (5.42%), valina (5.65%), fenilalanina (4.07%) y treonina (3.39%) (Chich *et al.*, 2002), por lo anterior resultaría interesante investigar una bebida vegetal a partir de cáñamo como base para la elaboración de un smoothie.

Tabla 2. Composición nutrimental (gramos) de diferentes bebidas vegetales de cáñamo en 100 mL

	Bebida vegetal natural de cáñamo	Pacific Foods®	Ecomil®
Proteína	4	4	2.4
Grasas totales	3	6	6.96
Carbohidratos	20	19	5.28
Azúcares totales	0	12	0.72
Calorías	130	140	96

1.2 Smoothie y sus componentes

Ante un estilo de vida apresurado y debido a tendencias dietéticas, se ha optado por una opción distinta a los desayunos tradicionales (comida a base de cereales y platillos cocinados), y se ha reportado que, en la actualidad para el desayuno existe preferencia por comida a base de líquidos (jugos, mezcla de jugos, licuados y smoothie), por lo práctico que resulta prepararlos y consumirlos (Tavolieri, 2018). El término "smoothie" se le da a una bebida mezclada, caracterizada por una consistencia pulposa, que contiene una o más frutas, yogur, leche de vaca o bebida vegetal (usualmente de soya), y mediante la combinación de diferentes ingredientes se logra un alto contenido de compuestos relacionados con la salud (Chatterjee, De

Neve, Dutta y Das, 2015). El smoothie clásico incluye un producto lácteo cremoso muy parecido al yogur combinado con vegetales, y un líquido que puede ser jugo o leche (Mattson, Pruzan, Brueckner y Poespowijoyo, 2007). Una encuesta realizada en Australia explorando actitudes, creencias y comportamientos sobre el consumo de smoothies, reportó que de 833 adultos (79% mujeres) revelaron que el 94% de la población de la muestra consumía smoothies, y el 39% lo hacía para el desayuno en lugar de otros alimentos (McCarthy *et al.*, 2018). De acuerdo con Bates & Price (2015), el consumo de smoothies, puede aumentar la ingesta de grupos básicos de alimentos como verduras, frutas y lácteos. Existen estudios en smoothies donde se añaden una serie de frutas, combinadas con bebidas vegetales o leche, como por ejemplo smoothie de jucara (fruta típica de la selva atlántica), plátano y fresa (Ribeiro *et al.*, 2019), smoothie de mango y yaca (fruta originaria de indonesia) y bebida vegetal de arroz (Amador *et al.*, 2019), smoothie de mango con diferentes leches (leche entera y de soya) (Morales *et al.*, 2018). Por lo que una alternativa podría ser un smoothie a partir de bebida vegetal de cáñamo, con adición de fruta como la zarzamora y con residuo de betabel.

Rubus fruticosus L. (Rosaceae), es un arbusto famoso por su fruta, llamada zarzamora, el peso de la fruta varía de 3 a 12 g dependiendo de la variedad, y se compone de varias drupas, cada una de las cuales contiene una semilla (Strik *et al.*, 2007). El pigmento de las frutas es utilizado también como colorante natural (Zia, Riaz, De Feo, Jaafar y Moga, 2014). Además, las zarzamoras se recolectan y consumen a nivel mundial debido a su buen sabor y alto contenido de compuestos bioactivos (Seeram *et al.*, 2006), en cuanto a su contenido nutricional aporta 4.88 g de azúcares totales, 9.61 g de carbohidratos, 1.39 g de proteína y 0.26 mg por cada 100 g (USDA, 2018).

Por otro lado, la remolacha o betabel (*Beta vulgaris* L.) se cultiva principalmente por su jugo, sus raíces son de color rojo y tiene piel delgada. El betabel es nativo de la región mediterránea y se cultiva ampliamente en Estados Unidos, Europa y en toda la India (Yashwant, 2015). Contiene 7.96 g de azúcar, 9.96 g de carbohidratos, 1.68 g de proteínas y 0.6 g de vitamina C por 100 g de pulpa (Bjarnadottir, 2015). En la obtención de jugo de betabel, se genera un residuo el cual es desechado, sin

embargo, de acuerdo con Sánchez *et al.*, (2011), los residuos de los alimentos podrían ser utilizados como productos comerciales, ya sea como materias primas, suministros o como ingredientes para nuevos productos. El residuo de betabel puede considerarse como un reemplazo de colorantes sintéticos, ya que estos son cada vez más cuestionados por el consumidor (Slavov *et al.*, 2013). Comúnmente, el residuo del betabel es utilizado en forma de polvo y sirve para potencializar el color rojo en algunos productos (pastas de tomate, sopas, mermeladas, etc.) (Singh y Hathan, 2014), además contiene fibra insoluble, así como betalaínas y compuestos fenólicos (Biondo *et al.*, 2014; Iahnke *et al.*, 2015), al igual que la semilla de cáñamo y zarzamora que contienen compuestos bioactivos como fibra, compuestos fenólicos, tocoferoles y carotenoides que brindan beneficios a la salud (Irakli *et al.*, 2019; Hager *et al.*, 2008).

1.3 Alimentos funcionales

El término de alimentos funcionales se propuso a inicio del año 1980 por la sociedad académica de Japón, se realizaron estudios e investigaciones para identificar los compuestos que brindan beneficios a la salud, dando lugar al concepto de alimentos funcionales (Arai, 1996). Los alimentos funcionales se introdujeron al mercado como FoSHU (Foods for Specific Health Use, por sus siglas en inglés), los primeros productos FoSHU fueron aprobados en 1993, no podía incluir términos médicos como prevenir, curar, o tratar enfermedades humanas (Makoto, 2014). Dentro de los beneficios que otorgan los alimentos funcionales a la salud se encuentran mejorar la salud gastrointestinal, reducir la presión arterial, bajar niveles de glucosa y colesterol en sangre (Apostol, 2017).

1.4 Beneficios de compuestos bioactivos en la salud

El consumo de semillas, frutas y verduras en la salud tiene efectos benéficos, y parece estar relacionado con la presencia de un amplio número de compuestos que pertenecen al grupo de los denominados fitoquímicos o sustancias bioactivas (Irakli *et al.*, 2019; Martínez *et al.*, 2008). En el reino vegetal se distinguen 4 grupos principales de compuestos bioactivos, en los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas como sustancias nitrogenadas, azufradas, terpénicas y las más

ampliamente estudiadas, las fenólicas (Berberán, 2003). La semilla de cáñamo puede ser consumida como semilla entera descascarada, así como en sus subproductos (aceite, harina y proteína en polvo) (House *et al.*, 2010). Es alta en antioxidantes y compuestos bioactivos como péptidos, compuestos fenólicos, (tocoferoles, carotenoides y fitoesteroles) (Irakli *et al.*, 2019). Estos compuestos bioactivos brindan propiedades antiinflamatorias, neuroprotectoras y antihipertensivos (Farinon *et al.* 2020). En cuanto a frutas, la zarzamora presenta compuestos bioactivos como fibra, vitaminas, fitoesteroles, carotenoides y ácidos orgánicos (Seeram *et al.*, 2006). Son de gran interés debido a su alto contenido de polifenoles, incluidas las antocianinas, que contribuyen a su alta actividad antioxidante (Dai, Gupte, Gates y Mumper, 2009). Esta fruta contiene una variedad de compuestos fenólicos que se consideran agentes protectores efectivos contra enfermedades degenerativas, como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Strik *et al.*, 2007). Finalmente, el betabel es una excelente fuente de compuestos bioactivos dentro de los que destacan los flavonoides, carotenoides, betalaínas y fenoles (Ruberto *et al.*, 2007), de acuerdo con Poti *et al.*, (2019) en un estudio de revisión y metaanálisis, hacen referencia a que un consumo habitual en la dieta rica en fenoles, tiene un efecto sobre la salud, ya que permite la prevención de enfermedades no transmisibles como cáncer, síndrome metabólico, diabetes, enfermedad periodontal, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. Los posibles mecanismos de los polifenoles sobre la salud incluyen efecto sobre presión arterial, función endotelial, metabolismo de la glucosa, así como efectos indirectos mediados por la interacción con el microbioma intestinal (Oteiza *et al.*, 2018; Barberan & Spin, 2016). Por otro lado, los efectos benéficos de las betalaínas, están en relación con su papel en la prevención del desarrollo de distintos tipos de cáncer y de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, e incluso de la enfermedad de Alzheimer (Martínez *et al.*, 2008).

Las tecnologías convencionales usualmente son utilizadas para preservar diferentes tipos de bebidas, lo cual permite obtener un producto seguro para el consumo con una vida de anaquel considerable, con la finalidad de preservar sus componentes, sin embargo, generan una disminución en compuestos bioactivos. Usualmente para

conservar diferentes tipos de bebidas, con la finalidad de preservar sus propiedades, se requieren tecnologías emergentes, tecnologías que generan muy poca pérdida de compuestos bioactivos para así obtener productos seguros y con características de frescura (Castorena *et al.*, 2013), como las que se mencionan en los siguientes apartados.

1.5 Tratamientos térmicos de bebidas de frutas y vegetales.

El tratamiento térmico más utilizado en la conservación de alimentos es la pasteurización, asegura una buena vida útil y estabilidad en los jugos de frutas y verduras, aun así, puede afectar la calidad final del producto en términos de nutrición (vitaminas y antioxidantes) y parámetros fisicoquímicos (pH y color) (Dubrovic *et al.*, 2011; Santhirasegaram *et al.*, 2013).

1.5.1 Pasteurización

La pasteurización es una de las operaciones unitarias de alimentos más comunes utilizadas para procesar y conservar los alimentos en el mundo. El calor es responsable de la inactivación microbiana, y la reducción de la actividad enzimática que se produce en los productos alimenticios sometidos a tratamiento térmico, siendo el resultado un producto seguro y cuya vida de anaquel será mucho más larga que su equivalente no procesado (Chemat, Rombaut, Meullemiestre, Turk, Perino, Fabiano & Abert, 2017). Es utilizado por la industria alimentaria con el fin de destruir microorganismos patógenos, así como de reducir los no patógenos a niveles menores, evitando el deterioro de los alimentos durante su almacenamiento, usando generalmente una temperatura menor de los 100 °C (Peng *et al.*, 2017). Los productos sometidos a pasteurización requieren almacenarse mediante refrigeración, para prevenir el crecimiento de esporas proteolíticas de *Clostridium botulinum* porque el proceso no las inactiva (Peek, 2006). Sin embargo, a pesar de los beneficios del tratamiento como la pasteurización, una serie de cambios tienen lugar en el producto que altera su calidad final, por ejemplo, sabor, color, textura y aspecto general. Por lo tanto, la necesidad de alternativas de transformación que puede lograr la inactivación microbiana, conservar los alimentos con características similares al fresco, y ofrecer productos ecológicos, todo ello a un costo razonable, se

ha convertido en el reto actual de numerosos científicos y tecnólogos de alimentos de todo el mundo (Barbosa & Bermudez, 2010). Existen tecnologías como alternativa a la pasteurización sin afectar en mayor medida el valor nutricional de los productos, como son las tecnologías emergentes que incluyen a los pulsos de alta intensidad de campo eléctrico (PEF), procesamiento de alta intensidad hidrostática (HHP), pulsos de alta intensidad de campo magnético (OMF), e irradiación, que utilizan condiciones de procesamiento menos agresivas para extender su vida de anaquel, mantener en mayor cantidad nutrientes y propiedades funcionales (Awad *et al.*, 2012; Shankar *et al.*, 2014; Chemat *et al.*, 2011). Otra de las tecnologías emergentes que se está estudiando como una alternativa a la pasteurización es el ultrasonido.

1.5.2 Ultrasonido

En los últimos años ha existido mucha actividad en el área de la utilización de ultrasonido para el procesamiento de alimentos líquidos, principalmente con lácteos y jugos de fruta (Paniwnyk, 2017). El ultrasonido es una tecnología emergente sostenible que mejora la velocidad de varios procesos en la industria de alimentos (Condón *et al.*, 2005). Se compone de ondas mecánicas que se propagan en un medio por transferencia de energía. Las partículas oscilan alrededor de su posición de equilibrio, con la transferencia de energía desde una partícula a otra (Mason *et al.*, 2002). Se clasifica en dos categorías basadas en la intensidad y frecuencia de las ondas de ultrasonido, las cuales son ultrasonido de baja y alta intensidad. Y se describen como ondas que tienen una frecuencia característica mayor de 100 kHz e intensidades por debajo de 1W/cm². (Arvanitoyannis *et al.*, 2017). El principio del funcionamiento del ultrasonido de baja intensidad, es que explota eficazmente la interacción entre la materia y las ondas sonoras de alta frecuencia, para obtener información en cuanto a la estructura, dimensiones y composición del producto a través del cual se difunde (Buckin *et al.*, 2002). El ultrasonido de alta intensidad induce cambios considerables en propiedades físicas, bioquímicas y mecánicas de los productos alimenticios, su frecuencia varía de 20 a 100 kHz mientras que las intensidades están en el rango de 10 a 1000 W/cm² (Arvanitoyannis *et al.*, 2017). Los beneficios que el ultrasonido brinda a bebidas son aumento en la vida útil

mediante la reducción de carga bacteriana, mejor estabilización y calidad, así como beneficios nutricionales y para la salud, como aumento en compuestos bioactivos y actividad antioxidante (Jiang *et al.*, 2012), mayor contenido de flavonoides y flavonoles, mayor aceptación por parte de del consumidor, ya que prefieren la textura y sabor de las bebidas ultrasonicadas por encima de las tratadas con tecnologías convencionales (Abidl *et al.*, 2014; Erkaya *et al.*, 2015). Se han realizado estudios en purés como el de fresa (Cheng *et al.*, 2007), jugo de lima (Bhat *et al.*, 2011), jugo de tuna púrpura (Zafra-Rojas *et al.*, 2013), jugo de tuna verde (Cruz Cansino *et al.*, 2013), jugo de guayaba (Campoli *et al.*, 2018) y bebidas vegetales como de almendra y cacahuete (Guimarães *et al.*, 2018, Salve *et al.*, 2019) y en smoothies ultrasonicados como en el smoothie de jicara, plátano y fresa (Ribeiro *et al.*, 2019) y smoothie de mango con diferentes leches (entera y de soya) (Morales *et al.*, 2018). La aplicación de ultrasonido genera un aumento de la temperatura, por lo que se ha considerado que resulta más eficaz cuando se combina con temperatura controlada, denominándose termoultrasonido, ya que este tratamiento aumenta la inactivación microbiana mediante la combinación de calor y cavitación (Feng *et al.*, 2008).

1.5.3 Termoultrasonido

La termoultrasonificación es el sometimiento de un producto a ultrasonido y calor moderado a no más de 50° C, es una herramienta efectiva para la inactivación microbiana y la retención de nutrientes en los alimentos (Zenker *et al.*, 2003). La aplicación de termoultrasonido en la conservación de alimentos, se ha convertido en una innovadora y atractiva herramienta ya que mejora la homogeneidad, existe una pérdida mínima de sabor y ahorro significativo de energía, se ha intentado como una alternativa al tratamiento térmico para el procesamiento de jugos de frutas como jugo de fresa, mora, naranja, tuna púrpura, pitaya y arándano (Abid *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2015; Liao *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2019), y resulta ser eficaz en cuanto al mejoramiento de las propiedades antioxidantes y la inactivación enzimática en el jugo zarzamora (Elizarrarás *et al.*, 2016), demostrando en néctar de yaca termoultrasonificado inactivación de microorganismos, enzimas y excelentes parámetros de calidad (Cruz *et al.*, 2020). Se ha reportado sólo un estudio sobre smoothie de frutas termoultrasonificado, donde un smoothie de mango y yaca,

sometido al tratamiento, resultó ser una alternativa viable, ya que conserva y mejora las propiedades y calidad en esta bebida (Amador *et al.*, 2019). Los estudios anteriormente mencionados han utilizado la metodología de superficie de respuesta (RSM, por sus siglas en inglés), que es una técnica estadística que reduce el número de experimentación basado en modelos matemáticos, así como tiempo y costos (Gardiner y Getinby, 1988; Baş, & Boyaci, 2007), con la finalidad de obtener la condición óptima de proceso, que permite identificar las mejores condiciones dependiendo los parámetros que se quieran mejorar en los alimentos, como textura, viscosidad, reducción de la carga microbiana, inactivación de enzimas, liberación de compuestos bioactivos, entre otros (Tiwari *et al.*, 2008).

2. Planteamiento del problema

Ante un estilo de vida sedentario y apresurado, la población en general opta por productos ultraprocesados que son de fácil acceso y bajo precio como el yogur, jugos y malteadas por sus características sensoriales agradables, sin embargo estas bebidas contienen colorantes sintéticos que causan alergias y en ocasiones cáncer, con alto contenido de azúcar y mínimas propiedades antioxidantes, por lo que el consumo de estas bebidas ha llevado al incremento de la obesidad en la población, con el riesgo de contraer enfermedades no transmisibles como por ejemplo la diabetes. El smoothie representa una bebida en la que pueden mezclarse diferentes ingredientes como frutas, verduras, lácteos o bebidas vegetales como la soya, almendra y semilla de cáñamo, entre otras. Esta combinación de materias primas aportaría mayores propiedades nutricionales y antioxidantes, ya que en el mercado se ofertan muy pocas marcas comerciales de este tipo de producto. Además, usualmente en las bebidas comerciales se aplica el proceso de la pasteurización para su conservación. Esta tecnología convencional, por el uso de altas temperaturas, genera pérdidas en sus propiedades nutricionales y de compuestos bioactivos, por lo que se buscan alternativas de tecnologías emergentes con la finalidad de minimizar daños como el termoultrasonido.

3. Justificación

Actualmente la industria de los alimentos se enfrenta a una nueva era, en donde la población busca productos de mejor calidad, mínimamente procesados a partir de fuentes vegetales sustentables. Elaborar un smoothie a partir de una bebida vegetal de semilla de cáñamo, adicionado con zarzamora y residuo de betabel, podría ser una alternativa a otras bebidas para beneficio del consumidor. El smoothie que se propone, contendría colorante a partir de fuentes naturales en lugar de colorantes sintéticos, lo que podría evitar problemas de salud en un futuro, así como coadyuvar al problema de la obesidad y a las enfermedades no transmisibles por sus propiedades nutricionales y antioxidantes, cumpliendo con las características que actualmente demanda el consumidor. Como se mencionó anteriormente, los alimentos usualmente son pasteurizados, por lo que la aplicación del termoultrasonido al smoothie, el cual utiliza temperaturas bajas logrando la inocuidad con mínimos cambios en su composición, sería una alternativa esta tecnología convencional. Existen pocos estudios sobre la aplicación del termoultrasonido en el smoothie (en diferentes matrices), sin embargo, se ha reportado la aplicación de esta tecnología en un smoothie de mango y yaca como una alternativa a la pasteurización, obteniendo resultados favorables sobre sus propiedades fisicoquímicas. Por lo que el presente proyecto propone aplicar esta tecnología emergente sobre una bebida a base de semilla de cáñamo, zarzamora y residuo de betabel utilizando el diseño de la metodología de superficie de respuesta, con la finalidad de obtener la condición óptima de proceso sobre las propiedades fisicoquímicas, la reducción de carga microbiana, contenido de fenoles y la actividad antioxidante.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Obtener un smoothie a base de bebida vegetal de cáñamo con zarzamora y residuo de betabel tratado con termoultrasonido que preserve sus propiedades fisicoquímicas y antioxidantes.

4.2 Objetivos específicos

1. Elaborar el smoothie a base de bebida vegetal de cáñamo con zarzamora y residuo de betabel mediante ensayos preliminares para que cumpla con las características de las bebidas.
2. Obtener trece tratamientos de termoultrasonido (amplitud y tiempo) de un smoothie a base de una bebida vegetal (*Cannabis sativa* L.) con zarzamora, adicionado con residuo de betabel utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM) para análisis de sus características microbiológicas, fisicoquímicas y antioxidantes.
3. Evaluar la calidad microbiológica mediante recuento total (RT) y enterobacterias (EB) en el smoothie para analizar el efecto del tratamiento de termoultrasonido en el smoothie.
4. Determinar las propiedades fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, índice de estabilidad, viscosidad y color) para evaluar cambios del smoothie por el tratamiento del termoultrasonido.
5. Cuantificar los compuestos bioactivos (betalaínas y compuestos fenólicos totales) y actividad antioxidante por ABTS, DPPH en el smoothie para evaluar el efecto del tratamiento de termoultrasonido.
6. Obtener la condición óptima del proceso de termoultrasonido por medio del predicho a través del programa JMP para conocer la mejor condición de tratamiento.

5. Diseño metodológico

En la figura 2 se muestran las etapas para la obtención de la bebida vegetal y el smoothie. Comenzando con la obtención de la materia prima en donde la semilla de cáñamo, el endulzante y el ácido cítrico se obtuvieron de marcas comerciales, la zarzamora entera y congelada, el residuo de betabel a partir de la extracción de jugo que fue liofilizado de estudios previos. Como segunda parte se obtuvo la bebida vegetal a partir de la semilla, por último, se muestran los ingredientes y el porcentaje en que fueron añadidos para generar el smoothie. La figura 3 muestra las variables (amplitud y tiempo) que arrojó el programa JMP y las determinaciones que se realizaron, iniciando con análisis microbiológico, siguiendo con las pruebas fisicoquímicas, compuestos bioactivos y antioxidantes que fueron analizados por el programa JMP, para arrojar el predicho y el traslape de figuras de contorno para apreciación de la condición óptima.

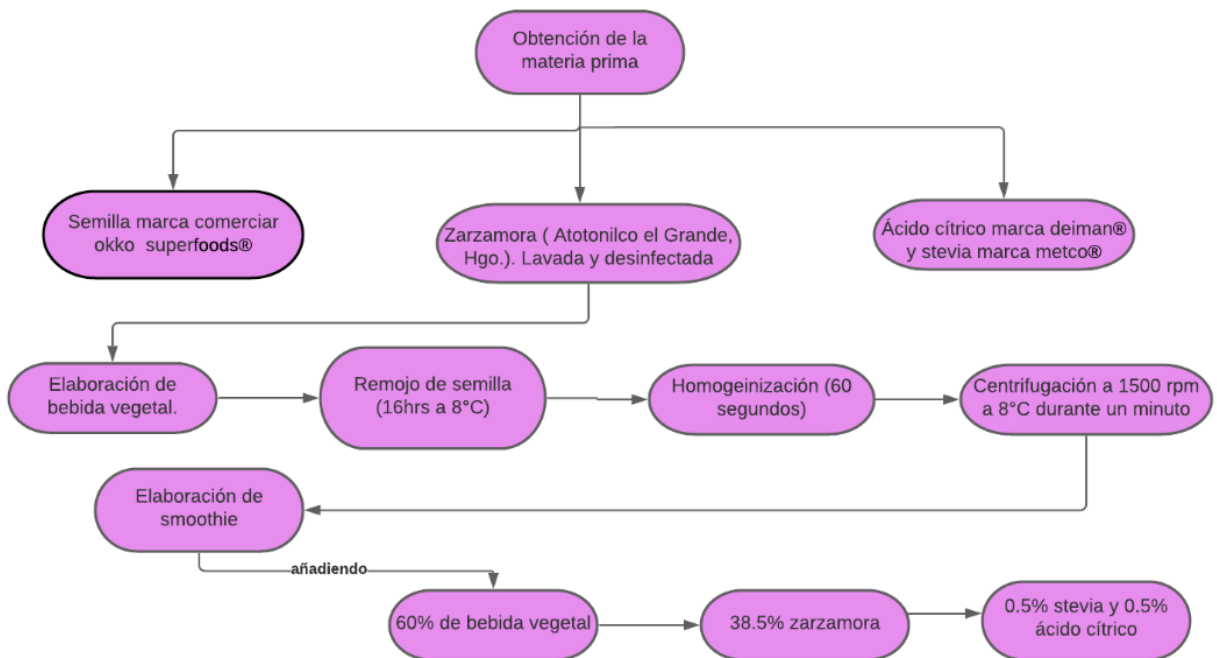


Figura 2. Obtención de la bebida vegetal y smoothie.

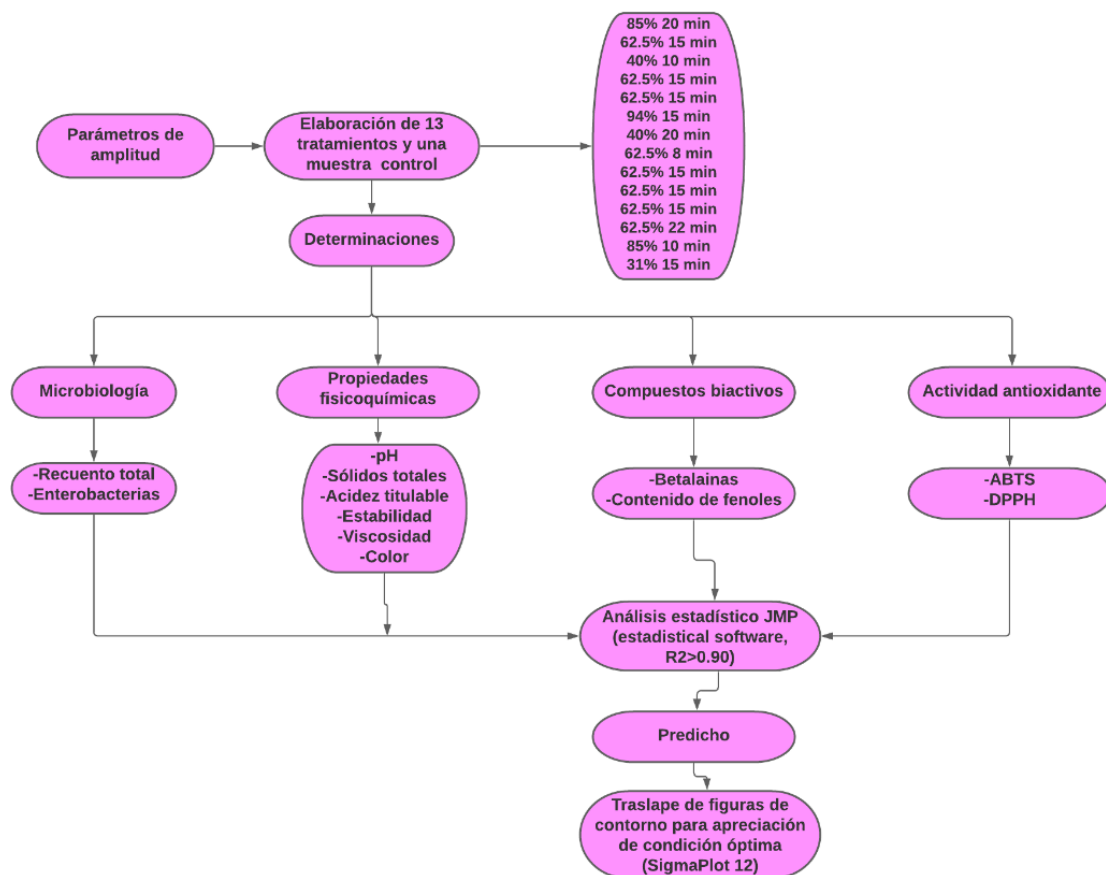


Figura 3. Determinaciones en el smoothie.

5.1 Tratamientos por termoultrasonido en smoothie.

El programa estadístico arrojó 13 tratamientos experimentales obtenidos mediante la metodología de superficie de respuesta para generar la condición óptima del proceso de termoultrasonido. Se utilizaron 400 mL de muestra llevándolos a un procesador de ultrasonido (VCX-1500, Sonics & Materials Inc., Newton, CT, USA) con una potencia de 1500 W, frecuencia constante de 20 kHz y tiempos de impulso de onda de 2 s encendido y 4 s apagado. Los parámetros de amplitud usados fueron de 30-90% y tiempo de 3-15 min, con temperaturas de salida de $50\pm 2^{\circ}\text{C}$, esto se logró utilizando un baño de agua (COLE-PARMER, 12108-10, USA).

5.2 Diseño experimental

El diseño experimental que se empleó fue un diseño central rotatorio, compuesto por dos variables independientes, cada una en cinco niveles, ordenados aleatoriamente utilizando metodología de superficie de respuesta (RSM, por sus siglas en inglés: Response Surface Methodology). Las variables de amplitud de 30-90 % (X1, %) y tiempo de 3-15 min (X2, min), se obtuvieron de acuerdo a valores obtenidos en experimentos preliminares y similares. Los valores codificados de las variables independientes fueron $-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$. El diseño arrojó 13 tratamientos (Tabla 3), de los cuales 5 fueron puntos centrales, 4 puntos factoriales y 4 puntos axiales, a una distancia de 1.414 entre 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 termoultrasonido y el valor medio de cada atributo se tomó como la respuesta (Y_i).

Tabla 3. Diseño experimental de tratamiento de termoultrasonido

Tratamiento	Patrón	Amplitud (%)	Tiempo (min)
1	++	85	20
2*	00	62.5	15
3	--	40	10
4*	00	62.5	15
5*	00	62.5	15
6	A0	94	15
7	--+	40	20
8	0a	62.5	8
9*	00	62.5	15
10*	00	62.5	15
11	0A	62.5	22
12	+--	85	10
13	A0	31	15

*Puntos centrales

Los datos experimentales se sometieron a análisis de regresión lineal múltiple utilizando JMP® 5.1 software estadístico (SAS Institute, Cary, NC, USA) y se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden, dado la siguiente ecuación:

Ecuación 1. Cálculo del modelo polinomial

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

Donde:

Y_i = respuesta prevista

β_0 = coeficiente constante

β_i = coeficiente lineal

β_{ij} = coeficiente de interacción

β_{ii} = coeficiente cuadrático

X_i y X_j = variables independientes

Las variables de respuesta o determinaciones que se ajustaron al modelo matemático con una $R^2 \geq 0.90$, mediante el programa SigmaPlot 12.3 (Systat Software Inc), se interpretaron con la elaboración de figuras tridimensionales y de contorno, esta última para una mayor apreciación de la condición óptima del proceso mediante un traslape.

5.3 Obtención de la materia prima

La semilla de cáñamo fue obtenida de la marca comercial okko super foods®. La zarzamora se obtuvo de una cosecha en el municipio de Atotonilco el grande, Hidalgo, se lavó con agua potable y se desinfectó en condiciones asépticas con un desinfectante comercial (Microdyn®), por último, se congeló. El ácido cítrico se adquirió de la marca Deiman® y el stevia de la marca Metco stevia®. Se obtuvo residuo de betabel a partir de la extracción de un jugo (Standard, Turmix®, México), separando el residuo del resto de los componentes; el residuo se liofilizó (liofilizadora VWR 26671-581 Labconco EE. UU), posteriormente se molió en un triturador (Blender model 38BL52 LBC10, Waring Comercial, EE. UU) y se tamizó a un tamaño de partícula de 500 µm.

5.4 Elaboración de bebida vegetal

Para la bebida vegetal se dejó remojar la semilla con agua potable al 25% (p/v), durante 16 horas, en un recipiente en condiciones asépticas, posteriormente se licuó mediante un procesador (Nutribullet®, USA) durante 45 segundos. Se colocó en frascos para centrífuga de una capacidad de 250 mL y se centrifugó (Beckman Coulter Allegra 25R 139255, EU) a 8°C a 1500 rpm durante 1 minuto, el sobrenadante se utilizó para la elaboración del smoothie.

5.5 Elaboración de smoothie

El smoothie se obtuvo añadiendo 60% de bebida vegetal de cáñamo, 38.5% de zarzamora (posteriormente lavada y desinfectada), 0.5% de stevia, 0.5 % residuo de betabel y 0.5% de ácido cítrico (la obtención de los porcentajes se generó de acuerdo con pruebas preliminares), una vez preparada la muestra, se licuó con un procesador de alimentos (Nutribullet®, USA) durante 60 segundos, y se separaron tres porciones de 400 mL del smoothie y una porción de smoothie fresco (muestra control). Las muestras fueron termoultrasonificadas y se realizó de inmediato el análisis microbiológico y pruebas fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, viscosidad y color) y otra parte se congelaron a -32 °C para posterior análisis del contenido y actividad antioxidante.

5.6 Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron mediante la técnica de microgota (Strahsburger *et al*, 2016). Usando 1 mL de smoothie diluido en agua peptonada 0.1% previamente esterilizada. Se obtuvieron 3 diluciones decimales, se utilizaron las diluciones 1:10, 1:100, 1:1000 e inoculación directa de 20 µL de dilución. El recuento de microorganismos mesófilos aerobios se hizo en agar métodos estándar (PCA) con una incubación (LSI-3016A, Labtech, Korea) de 48 horas a 30°C. El recuento de enterobacterias (EB) fue en agar bilis rojo violeta glucosado (VRBG) con una incubación de 24 horas a 37°C. Se realizó un conteo en placa de las colonias observadas, las cuales se multiplicaron de acuerdo a la dilución correspondiente y

los resultados fueron calculados obteniendo el logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonias por mililitro (log UFC/mL).

5.7 Propiedades fisicoquímicas

5.7.1 Determinación de pH

La medición de pH indica el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno e hidroxilo presente en el producto (Briones-Rodríguez, *et al* 2005), para su medición se utilizó un potenciómetro (HANNA, PH210, Rumania).

5.7.2 Sólidos solubles totales (SST)

Los sólidos solubles totales, fueron medidos con un refractómetro (Trading Co., Brix/ATC Fg-113 Chincan, China) y los resultados fueron expresados en °Brix (Rojas y Andres, 2000).

5.7.3 Acidez titulable.

La acidez titulable se representa por los ácidos orgánicos libres y se mide con su neutralización a partir de una solución base, usualmente empleando fenolftaleína como indicador. Esta se determinó por el método de la AOAC (942.15, 1999), se midió 1 mL de la muestra y 9 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer, se añadieron 3 gotas del indicador de fenolftaleína y se homogeneizó manualmente la titulación se hizo hasta observar un cambio de color. Fueron registrados los mililitros gastados de NaOH para neutralizar cada muestra. La acidez titulable se expresó como porcentaje de ácido cítrico, de acuerdo a la siguiente ecuación:

Ecuación 2. Porcentaje de acidez titulable

$$\% \text{ acidez titulable} = (V \cdot N \cdot 0.064M/1) \cdot 100$$

Donde:

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

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

0.064: Constante

M= Volumen de la muestra en mL.

5.7.4 Estabilidad

El índice de estabilidad consiste en el peso de los sólidos sedimentados obtenidos posterior a la centrifugación, teniendo dos fases (sedimentado y sobrenadante), un valor alto de este parámetro indica una baja estabilidad como consecuencia de la sedimentación de las partículas (Cruz *et al.*, 2007). La determinación de estabilidad se realizó de acuerdo con Zafra-Rojas *et al.*, (2013). Se centrifugó 10 mL de smoothie a 3,000 rpm (Hamilton Bell, V6500, USA) durante 20 minutos, y los resultados de estabilidad se expresaron como porcentaje de estabilidad, calculados con la siguiente ecuación:

Ecuación 3. Porcentaje de estabilidad

$$\text{Estabilidad (\%)} = (100) - \left(\frac{\text{Tubo 2} - \text{Tubo 1}}{\text{Muestra}} \times 100 \right)$$

Donde:

Tubo 1: peso del tubo vacío en gramos

Tubo 2: peso del tubo con muestra después de centrifugar en gramos

Muestra: peso de la muestra agregada previamente al tubo en gramos

5.7.5 Color

Para esta medición se utilizó un colorímetro portátil (500SM-508D, Minolta CM-80, Japón), por el método descrito por Aular *et al.*, (2002), registrando las coordenadas L^* , a^* , b^* , términos de la Comisión Internacional en Iluminación (CIE, por sus siglas en francés), donde L^* indica luminosidad que va de 0 a 100 (negro a blanco respectivamente); a^* es el eje de cromaticidad entre el verde (-) y el rojo (+), y b^* el eje entre el azul (-) y el amarillo (+). Para el cálculo de saturación o cromaticidad se usó la ecuación 3, siendo la distancia desde el eje de luminosidad (L^*), definido como el nivel de desviación del gris al color cromático puro (Morales & Jiménez, 2001; Zhao *et al.*, 2004).

Ecuación 4. Croma (C)

$$C = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

Donde:

C= Croma

a^* = coordenada a^*

b^* = coordenada b^*

Hue (h°) define la tonalidad o ángulo de color, para su determinación se usaron los valores numéricos de a^* y b^* (Arias *et al.*, 2018), como se observa en la siguiente ecuación:

Ecuación 5. Hue ($^\circ h$)

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

5.7.6 Viscosidad

La viscosidad, se define como la resistencia derivada de la falta de deslizamiento de las capas de un líquido, proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él. Se midió con un viscosímetro (Brookfield DV-E USA), se utilizó una aguja LV-1 61 rpm, se añadieron 35 mL de smoothie en tubos de centrífuga a temperatura de 20°C, los valores fueron expresados en centipoises (cps) (Pérez-Trejo *et al.*, 2010).

5.8 Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante

Se determinaron las betalaínas y los compuestos fenólicos totales, así como también la actividad antioxidante por métodos de ABTS y DPPH, para ello se llevó a cabo una extracción de la muestra por medio de solventes.

5.8.1 Método de extracción para antioxidantes

Se realizó una extracción acuosa orgánica en donde fueron guardados y llevados a congelación 10 mL de smoothie, para después someterse a un proceso de liofilización (VWR 26671-581 Labconco, USA), posteriormente se llevó a cabo el método descrito por Saura-Calixto *et al.*, (2007) usando solventes metanol/ agua (50:50) y acetona/agua (70:30), en donde se hicieron dos lavados, el primero fue con

metanol/agua y el segundo con acetona/agua, aforando en matraces de 25 mL con mezcla 1:1 metanol/agua–acetona/agua. Las extracciones se utilizaron para la la determinación de compuestos bioactivos (betalaínas y contenido fenólico total) y actividad antioxidante (ABTS y DPPH).

5.8.2 Determinación de betalaínas

Para la cuantificación de betaxantinas y betaninas, se determinaron según el método de Stintzing *et al.*, (2002) 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 (BC) se calculó con la siguiente ecuación:

Ecuación 6. Contenido de betalaínas

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

Dónde:

A = Absorbancia a 535 o 480 nm

FD = Factor de dilución

l = 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. El contenido de betaninas y betaxantinas se expresaron como mg equivalentes de betalaínas por 100 mL (mg EB/100 mL).

5.8.3 Determinación de contenido de fenoles

El contenido de fenoles se determinó mediante el procedimiento de Folin-Ciocalteu, basado en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, 1979). Se preparó una solución de Folin-Ciocalteu en una concentración de 1:10 (10 mL en 90 mL de agua destilada), una solución de carbonato de sodio (7.5 mg en 100 mL de agua destilada) y la solución de ácido gálico (AG) (15 mg en

50 mL de agua destilada). Se realizó una curva estándar de AG de 0, 100, 200 y 300 mg/L (AG/agua destilada), utilizando como blanco agua destilada. Se tomaron 100 μ L de muestra de cada tratamiento, se adicionó 500 μ L de folin y 400 μ L de carbonato de sodio y se dejó reposar 30 min, posteriormente se llevó a un lector de microplacas a 765 nm (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) y los resultados fueron reportados como mg equivalentes de ácido gálico por 100 mL (mg EAG/100 mL).

5.9 Determinación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante se midió por los métodos de ABTS y DPPH.

5.9.1 Actividad antioxidante por ABTS^{•+}

Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+}, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones (Re, *et al.*, 1999). El radical catiónico ABTS^{•+} es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Se preparó la solución de ABTS al 7 mM (en 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 a temperatura ambiente (25°C) en total obscuridad, se realizaron diluciones en agua destilada hasta obtener una lectura de 0.7 ± 0.1 a 754 nm. Se elaboró una curva estándar en concentraciones 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 μ mol/l con una solución de trolox (3.75 mg en 50 mL de etanol). Se tomaron 100 μ L de la muestra y 900 μ L de ABTS, se dejó reposar por 7 min, se realizó la lectura en el lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), utilizando como blanco agua destilada. La actividad antioxidante se expresó como micromoles equivalentes de Trolox por 100 mL (μ mol ET/100 mL) (Kuskoski *et al.*, 2005).

5.9.2 Actividad antioxidante por DPPH•

Este método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radicales libres DPPH (Chávez, 2004). 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 $\mu\text{mol ET/L}$, se realizó la lectura en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), se colocaron 100 μL de las muestras y 500 μL de la solución DPPH, se dejó reposar por 60 min y se midió a una longitud de onda de 520 nm. La actividad antioxidante se expresó en micromoles equivalentes de trolox en 100 mL ($\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$).

6. Resultados y discusión

6.1 Microbiología

El análisis microbiológico representa un instrumento útil para evaluar y verificar la efectividad de las regulaciones de seguridad e higiene alimentaria, proporcionando información sobre el control de procesos e incluso lotes de productos específicos (CODEX, 2015)

Los resultados de las variables de respuesta de mesófilos aerobios y enterobacterias se muestran en la Tabla 4. La muestra control arrojó valores de 5.18 log UFC/mL para mesófilos aerobios (MA) y 5.00 log UFC/mL para enterobacterias (EB), siendo el tratamiento 85% por 10 min el que obtuvo la mayor reducción (3.33 log UFC/mL) para MA y el tratamiento 31% y 15 min (2.57 log UFC/mL) para EB.

Tabla 4. Efecto de la amplitud y tiempo del smoothie termoultrasonificado sobre mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB)

Tratamiento (%Amplitud /min)	MA (log UFC/mL)	EB (log UFC/mL)
Control	5.18±0.34	5.00±0.42
85%/20min	4.03±0.10	3.83±0.17
62.5%/15 min	3.75±0.31	3.53±0.21
40%/10 min	3.76±0.10	3.79±0.20
62.5%/15 min	4.72±0.08	4.75±0.13
62.5%/15 min	4.99±0.11	4.35±0.33
94.%/15 min	4.38±0.29	4.96±0.26
40%/20 min	4.27±0.19	3.44±0.23
62.5%/8 min	4.19±0.35	3.71±0.05
62.5%/15 min	4.52±0.14	3.69±0.27
62.5%/ 15 min	3.37±0.16	2.58±0.09
62.5%/ 22 min	3.48±0.30	2.62±0.08
85%/10 min	3.33±0.22	2.75±0.15
31%/15 min	3.51±0.55	2.57±0.24
R ²	0.19	0.30

±desviación estándar

Un comportamiento similar fue reportado en un smoothie de frutas (mango, yaca y bebida vegetal de arroz) termoultrasonificado, la muestra control para MA y EB fueron de 4.55 y 3.85 log UFC/mL respectivamente, en donde los tratamientos termoultrasonificados obtuvieron una disminución respecto al control (Amador *et al.*, 2019). En vinagre de jugo de uva verde y en jugo de arándanos en donde utilizaron ultrasonido también existió una reducción para MA y EB (Yıkmiş, 2020; Mohideen *et al.*, 2015). La reducción que presentaron los tratamientos se debe a que la combinación de cavitación y calor que genera el termoultrasonido ocasionó un efecto sobre la membrana bacteriana provocando despolimerización de macromoléculas (Feng, Yang, & Hielscher, 2008; Kushwaha *et al.*, 2020; Herceg *et al.*, 2013).

6.2 Propiedades fisicoquímicas

En la Tabla 5 se muestran los valores obtenidos para las propiedades fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, estabilidad y viscosidad), así como los parámetros de color. Estas variables de respuesta no se ajustaron al modelo matemático.

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de un smoothie.

Tratamiento (% amplitud/min)	pH	SST (°Brix)	AT (% ác. cítrico)	Estabilidad (%)	Viscosidad (cps)
Control	3.42±0.02	12±0.00	0.62±0.04	69.13±0.92	142.67±9.29
85%/20min	3.36±0.01	10±0.58	1.07±0.04	69.89±1.12	155.83±4.91
62.5%/15 min	3.38±0.01	10±0.58	1.07±0.04	66.61±2.40	183.43±2.38
40%/10 min	3.33±0.01	10±0.00	1.02±0.00	67.52±0.42	179.83±4.51
62.5%/15min	3.39±0.01	10±0.00	0.47±0.04	58.89±2.54	151.17±0.29
62.5%/15 min	3.40±0.01	10±0.00	0.55±0.04	64.91±1.84	161.33±2.25
94%/15 min	3.40±0.01	11±0.00	0.53±0.04	61.59±0.86	156.67±0.58
40%/20 min	3.49±0.01	11±0.00	0.53±0.04	67.75±0.90	165.50±4.77
62.5%/8 min	3.46±0.01	11±0.00	0.70±0.00	70.05±4.42	155.00±0.50
62.5%/15 min	3.50±0.01	12±0.00	0.66±0.04	69.22±4.35	184.67±1.04
62.5%/ 15 min	3.47±0.02	12±0.00	0.55±0.04	62.06±0.73	130.67±2.75
62.5%/ 22 min	3.47±0.02	12±0.00	0.58±0.00	66.39±1.13	120.50±2.29
85%/10 min	3.53±0.01	10±0.00	0.55±0.04	60.94±2.29	174.00±1.00
31%/15 min	3.54±0.01	10±0.00	0.55±0.04	70.16±2.47	65.17±2.02
R^2	0.56	0.23	0.46	0.44	0.31

± desviación estándar

6.2.1 pH

Los valores de pH variaron de entre 3.33 a 3.54 en las muestras tratadas por termoultrasonido, los cuales fueron similares a la muestra control (3.42). En un smoothie de frutas a base de mango y yaca, los tratamientos termoultrasonificados se reportaron en un rango de 4.54-5.1 (Amador *et al.*, 2019). Mientras que en un smoothie de jucara (fruto típico de Brasil), plátano y fresa, la muestra control tuvo un pH de 4.2 y los tratamientos ultrasonificados estuvieron en un rango de 4.2-4.4 reportando que las condiciones de ultrasonido no afectan esta característica (Ribeiro *et al.*, 2019). En jugo de tuna púrpura el termoultrasonido generó un mínimo efecto (Cruz *et al.*, 2015).

Por otro lado, en dos muestras de smoothie de mango con diferentes leches (leche entera y de soya) después de aplicar ultrasonido los valores de pH disminuyeron, así como en un jugo de sandía roja y amarilla (Morales *et al.*, 2018; Seydi Yıkmiş, 2020). Las ligeras variaciones presentes en las muestras termoultrasonificadas, pueden deberse a que el fenómeno de cavitación durante el ultrasonido produce reacciones químicas que podrían estar relacionados con cambios en el pH (Bermudez & Barbosa, 2012). Así como reacciones de hidrólisis y lipólisis podrían tener lugar durante la sonicación, debido a la actividad enzimática y algunas sustancias como nitrito, peróxido de hidrógeno, nitrato, ésteres y ácidos grasos libres a partir de los triglicéridos que se liberan y/o se forman dentro del medio (Walstra *et al.*, 2006; Supeno & Kruus, 2000)

6.2.2 Sólidos solubles totales (SST)

Los sólidos solubles representan un parámetro importante en bebidas ya que influyen en el sabor y otras propiedades organolépticas (Fernandes *et al.*, 2020). En SST, los valores fueron de entre 10-12° Brix para los tratamientos y el control de 12 °Brix. Los resultados mostraron una ligera disminución con respecto a la muestra control, excepto por los tratamientos de 62.5% 15 min y 62.5% y 22 min, los cuales mostraron resultados similares al control. No se han encontrado estudios que determinen los parámetros deseados de SST en smoothies, sin embargo, se han añadido estudios en smoothies para poder realizar la comparación con la matriz de este estudio. De acuerdo con un smoothie de

frutas (juçara, plátano y fresa), los valores de SST no fueron afectadas por el ultrasonido, así como en un puré de fresa (Oliveira *et al.*, 2019; Cheng *et al.*, 2014). Mientras que en un smoothie de frutas (mango y jaca), los tratamientos termoultrasonificados estuvieron en un rango de 13.1-14.8, los cuales tuvieron un aumento de acuerdo al tiempo y amplitud (Amador *et al.*, 2019). En un jugo de lima aplicando 30 y 60 min, tuvieron una ligera disminución en SST, siendo la muestra ultrasonificada a 60 min la que presentó mayor disminución (6.40) en comparación con la muestra control (6.60) (Bhat *et al.*, 2011). Como se mencionó arriba, diversos estudios reportan ya sea un incremento o una disminución de los sólidos solubles totales, explicando que esto depende de las condiciones de aplicación del ultrasonido y de la matriz alimenticia. En el caso del aumento se puede atribuir al daño del tejido y la pared celular de la fruta, generando la difusión del agua dentro de la célula de la fruta lo que provoca la solubilización de más sólidos solubles (Zou *et al.*, 2010). En el caso de la disminución, no se ha reportado el efecto del ultrasonido sobre los sólidos solubles totales, sin embargo en otra tecnología emergente como la alta presión de homogenización, en donde el mecanismo de acción es parecido al ultrasonido, se ha reportado un aminoramiento de solutos solubles debido a la posible reestructuración de las proteínas y fibra en leche y bebidas vegetales atrapando otros compuestos (Cruz *et al.*, 2007), lo que pudo haber generado la ligera disminución del smoothie del presente trabajo, posiblemente por las proteínas que contiene la bebida vegetal, así como fibra del residuo de betabel. La ligera disminución de SST en algunos tratamientos del presente trabajo pudiera ser imperceptible, a pesar de que no existen parámetros establecidos para SST en smoothies, en la NOM-173-SE-2020 en jugos con múltiples frutas, lo permitido es de 10°Brix y en el CODEX 2005, indica que para jugos y néctares de zarzamora (fruta que se utilizó para la elaboración del smoothie), los parámetros deberán estar entre 9 y 11 °Brix. Por lo que los valores de los SST en el smoothie podrían ser aceptables según la normatividad antes mencionada.

6.2.3 Acidez titulable (AT)

En cuanto a los resultados para AT, las muestras presentaron valores de 0.47-1.07%, mientras que la muestra control tuvo 0.62%. Los tratamientos a 85% 20 min, 62.5% 15 min y 40% 10 min, obtuvieron los valores más altos de 1.07, 1.07 y 1.02%, respectivamente. Un comportamiento similar fue obtenido en un smoothie de frutas ultrasonicado (jucara, plátano y fresa) (Oliveira *et al.*, 2019). Mientras que un smoothie de mango ultrasonicado en donde se aplicó 100% de amplitud durante 20 minutos y dos temperaturas 35 y 55°C, generaron un aumento en la AT comparado con la muestra control. Las diferencias entre los estudios se atribuyen, al origen y variedad de las materias primas, a la adición de algunos componentes con propósito de conservación y a las diferentes proporciones de los ingredientes utilizados para formular una bebida como el smoothie (Oliveira *et al.*, 2018; Morales *et al.*, 2018).

6.2.4 Índice de estabilidad

La estabilidad del smoothie en la muestra control presentó un valor de 69.13%, mientras que las muestras termoultrasonificadas estuvieron en un rango de 58.89- 70.16%, siendo más altos los tratamientos a 31% 15 min y 62.5% 8 min (70.05% y 70.16%, respectivamente). No existen estudios sobre la estabilidad de smoothies sin embargo en otras bebidas, se encontró un comportamiento parecido como en un jugo de tuna púrpura ultrasonicado en tratamientos a 60% 10 min (76.39%) y a 80% 15 min (76.35%) (Zafra-Rojas *et al.*, 2013). Así como en un jugo de tuna verde termoultrasonificado tratado a diferentes condiciones de amplitud y tiempo, el porcentaje de estabilidad fue mayor en la muestra control (77.96%) así como en sus tratamientos (>77%), alcanzando hasta 83% de estabilidad (80% 15 min) (Cruz-Cansino *et al.*, 2016). Mientras que en jugo de guayaba ultrasonicado los mejores resultados se presentaron en tiempos de 9 minutos, ya que no existió precipitación de la pulpa, mientras que condiciones de 3 y 6 min tuvieron 85% y 91% de estabilidad, respectivamente (Campoli *et al.*, 2018). Por otro lado, en una bebida vegetal de almendra ultrasonicado, la estabilidad aumenta cuando se incrementa el tiempo de ultrasonido al 100% de amplitud (Maghsoudlou *et al.*, 2015). En una bebida prebiótica de suero (suero en polvo, leche y polvo de guanábana) y en una bebida vegetal de cacahuate ultrasonificadas, reportaron que a pesar de incrementar la intensidad de

ultrasonido no presentó separación de fases (Guimarães *et al.*, 2018; Salve *et al.*, 2019). El ligero aumento en la estabilidad de los tratamientos (70.05% y 70.16%) del presente trabajo, se debe a que el ultrasonido ocasiona alto efecto de cizallamiento que se produce durante la cavitación, esto fragmenta las moléculas de pectina coloidal en una más pequeña que puede ayudar a estabilizar un sistema coloide, esta reducción del tamaño de las partículas podría explicar porque se retuvieron más partículas finas en el sobrenadante después de la centrifugación (Cheng *et al.*, 2007). Además, otra causa que podría haber influido en la estabilidad, es la desnaturalización de las proteínas, ya que en el smoothie que se elaboró en el presente estudio cubrió un 60% de bebida vegetal a partir de la semilla hemp, el ultrasonido posiblemente generó el despliegue de las moléculas de proteína, aumentando su hidrofobicidad superficial de las moléculas (Nguyen y Anema, 2010). Por lo tanto, el comportamiento de la estabilidad de los productos ultrasonificados depende mucho de los componentes de la matriz de cada alimento a estudiar (jugo, bebida vegetal y smoothie).

6.2.5 Viscosidad

La viscosidad representa un criterio primordial en el procesamiento de alimentos, tanto en la determinación de su funcionalidad, como en el control de calidad (intermedio o final) y vida del producto, es un atributo fundamental para determinar la calidad de muchos alimentos, líquidos y semisólidos, define la aceptación por parte del consumidor (Steffe, 1996). En cuanto a este parámetro, se obtuvo una media de 152.59 cps, en la mayoría de los tratamientos termoultrasonificados existieron aumentos respecto al control, excepto por los tratamientos 62.5% 15 min, 62.5% 22 min y 31% 15 min (130.67 cps, 120.50 cps y 65.17 cps, respectivamente).

En un jugo de durazno ultrasonificado la viscosidad aumentó en relación con el tiempo de proceso (Rojas *et al.*, 2016). Otro estudio en donde evaluaron dos jugos (jitomate y naranja) ultrasonificados, la viscosidad aumentó en relación con el incremento de la velocidad del ultrasonido (Zhao, Basir y Mittal, 2003). Mientras que, en jugo de kiwi procesado con ultrasonido de alta intensidad, existió un ligero aumento después de los 16 minutos de tratamiento (Wang *et al.*, 2019). En un puré de tomate, la viscosidad

aumentó después del tratamiento de ultrasonido (Bates, Bagnall y Bridges, 2006). En un smoothie de mango, al que se agregó polvo de semilla de tamarindo en diferentes porcentajes como agente espesante, y no se sometió a algún tratamiento de conservación, se observó un comportamiento similar al de este estudio (Farhat *et al.*, 2020), la diferencia radica en que se añadió un ingrediente natural como espesante para aumentar la viscosidad del smoothie y en este estudio, la viscosidad aumentó por el tratamiento de termoutrasonido, lo cual indica ser un punto positivo ya que lo que se busca con este tipo de bebida es que aumente la viscosidad.

Sin embargo, en estudios reportados en smoothies de frutas ultrasonicados, los resultados han sido diferentes. En un smoothie de frutas (manzana, fresa, plátano y naranja), la viscosidad disminuyó al aplicar amplitudes >40% en comparación con la muestra control (Keenan *et al.*, 2012). Así como también, Oliveira *et al.*, (2019) en un smoothie de frutas (jucara, plátano y fresa) ultrasonicado, reportaron que la viscosidad disminuye en relación a la amplitud.

La disminución en los tratamientos termoutrasonicados, quizás se debe a que el ultrasonido rompe estructuras vegetales, disminuyendo su peso molecular (Oliveira *et al.*, 2019), este puede ser un fenómeno temporal o permanente, dependiendo de la energía aplicada, e incluso puede aumentar la viscosidad (Seshadri *et al.*, 2003). Sin embargo, Vercet *et al.*, (2002), menciona que la reducción del peso molecular aumenta la interacción entre ellas, incrementando la viscosidad, lo que podría causar una mayor solubilidad y por lo tanto una menor fluidez en el alimento (Pokhrel *et al.*, 2017).

6.2.6 Color

El color de los alimentos representa un atributo importante de calidad, ya que puede influir en la aceptabilidad por parte del consumidor (Sala *et al.*, 1995). La Tabla 6 muestra los resultados de las coordenadas de color (L^* , a^* , b^* , C y h°). En el parámetro de L^* , los tratamientos termoutrasonicados arrojaron un rango de 32.37-38.55, siendo las muestras tratadas a 31% 15 min, 62.5% 22 min, 62.5% 15 min y 40% 20min, las que obtuvieron una claridad ligeramente menor comparadas con el control.

Tabla 6. Efecto de amplitud y tiempo de termoultrasonido en el smoothie sobre las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*), Croma y Hue.

Tratamiento (%amplitud/min)	L^*	a^*	b^*	C	Hue
Control	35.06±0.28	30.51±0.05	5.97±0.03	27.22±0.14	9.35±0.16
85%/20min	37.43±0.29	29.18±0.15	3.86±0.08	28.88±0.70	7.22±0.06
62.5%/15 min	36.32±0.31	27.85±0.20	3.82±0.10	28.70±0.31	7.81±0.05
40%/10 min	36.25±0.34	28.59±0.05	3.87±0.01	28.68±0.18	8.18±0.10
62.5%/15min	38.55±0.05	28.14±0.04	3.87±0.06	28.43±0.06	7.51±0.28
62.5%/15 min	36.86±0.95	28.10±0.11	4.02±0.02	29.01±0.05	7.84±0.03
94%/15 min	36.99±0.06	29.53±0.05	3.73±0.03	28.95±0.27	7.59±0.16
40%/20 min	34.06±0.03	29.19±1.55	4.03±0.01	30.34±0.01	7.63±0.02
62.5%/8 min	35.74±0.06	28.38±0.09	3.60±0.04	28.61±0.09	7.56±0.08
62.5%/15 min	36.10±1.63	28.58±0.99	3.83±0.26	29.52±0.61	7.46±0.36
62.5%/ 15 min	33.38±0.37	29.15±0.06	4.89±0.12	29.56±0.08	9.65±0.11
62.5%/ 22 min	33.05±0.78	29.45±0.02	4.06±1.19	29.14±0.32	8.36±0.73
85%/10 min	35.19±0.06	29.04±0.63	4.81±0.04	29.68±0.12	9.33±0.04
31%/15 min	32.37±2.66	29.21±0.07	4.71±0.02	29.72±0.08	10.59±0.03
R ²	0.50	0.68	0.23	0.61	0.31

Promedio ±desviación estándar

Un comportamiento similar se observó en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, en donde hubo una disminución de L^* , en los tratamientos 80% 15 min y 80% 25 min (1.58 y 1.28, respectivamente) en comparación con la muestra control (1.74) (Cruz-Cansino et al., 2015). Oliveira *et al.*, (2019), reportaron valores diferentes para el parámetro de L^* en un smoothie de jicara, plátano y fresa tratado con ultrasonido, mencionando que, al incrementar la potencia en el tratamiento, se aumenta la luminosidad. Se ha reportado que el ultrasonido puede generar una disminución o aumento de la luminosidad, lo cual puede deberse a reacciones físicas como ruptura de la estructura celular en la pulpa de las frutas y químicas como la despolimerización (Chemat & Khan, 2011; Gronroos *et al.*, 2005).

Las muestras termoultrasonificadas en la coordenada a^* obtuvieron valores de 27.85-29.53, presentando una ligera disminución en comparación al control, observándose el mismo comportamiento en la coordenada b^* , donde los tratamientos termoultrasonificados fueron menores (3.60-4.89) en comparación al control (5.97), ubicándose todas las muestras en el cuadrante rojo-amarillo (Fig. 4). Similares resultados a los de esta investigación fueron encontrados en jugo de pitahaya termoultrasonificado, en donde los

valores disminuyeron en comparación con la muestra control (Liao *et al.*, 2020), los autores reportan que las pérdidas de color se atribuyen a la degradación de las betacianinas, las cuales son responsables del color característico del fruto (pitahaya). En jugo de arándano termoultrasonificado, existió una disminución similar a la de este smoothie, donde explican que este comportamiento se atribuye a reacciones de maillard y degradación de antocianinas (Li *et al.*, 2019). Es importante mencionar que muy pocos estudios han sido realizados en smoothies, sin embargo, se presentó un comportamiento similar en uno de frutas (manzana, fresa, plátano y naranja), ya que existió una disminución referente al control (Keenan *et al.*, 2012).

Croma indica de manera visual el nivel de saturación, pureza o intensidad del color. Se define como el nivel de desviación que va de gris a un color puro cromático (Zhao *et al.*, 2010). En croma (C) existió un ligero aumento en los smoothies termoultrasonificados (28.43-30.34) comparado con el control (27.22). Cruz-Cansino *et al.*, (2015), en jugo de tuna púrpura ultrasonificado, existieron valores con similitud a este estudio en donde los resultados tuvieron un ligero aumento con respecto al jugo fresco. Similar comportamiento se obtuvo en un smoothie de frutas (manzana, fresa, plátano y naranja) en donde los tratamientos ultrasonificados tuvieron un ligero aumento respecto a la muestra control (Keenan *et al.*, 2012).

La coordenada Hue, indica la tonalidad de las muestras, arrojando disminuciones y aumentos entre los tratamientos termoultrasonificados (7.22-10.59) referente a la muestra fresca (9.35). En un smoothie ultrasonificado (jucara, plátano y fresa) los valores mostraron similitud al control (Oliveira *et al.*, 2019) y en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado (Cruz-Cansino *et al.*, 2015), se encontró una tendencia similar a este estudio en las muestras tratadas respecto al control.

Cabe resaltar, que el smoothie del presente estudio contiene zarzamora y residuo de betabel. En el caso de la zarzamora los pigmentos que contiene principalmente son antocianinas y en betabel son betaninas (Gliszczyńska *et al.*, 2006; Tiwari *et al.*, 2009). Se ha observado que la degradación de betaninas se debe a un aumento en la temperatura, amplitud y tiempo de tratamiento del ultrasonido (Palamidis & Markakis,

1978), por lo que posiblemente las pequeñas pérdidas en el color del smoothie podrían estar ocasionadas por la degradación de cianidina-3-glucósido de la zarzamora, por la producción de radicales libres debido al efecto de cavitación (Tiwari *et al.*, 2009). Por otro lado, las betalaínas son moléculas termolábiles y su velocidad de descomposición aumenta con la temperatura (Castellar *et al.*, 2003). También al aplicar el ultrasonido se alcanzan temperaturas de entre 50° y 80°C (Saguy, *et al.*, 1978), por todo lo anterior, podría haber ocasionado la ligera disminución en los cambios de color en el smoothie, ya que en el presente trabajo la temperatura de salida del smoothie durante el tratamiento de termoultrasonido fue de 50-55°C. Sin embargo, la ligera disminución de color podría ser imperceptible, ya que se aprecia en la Figura 4 un color similar al control, por lo que podría ser aceptable para el consumidor.

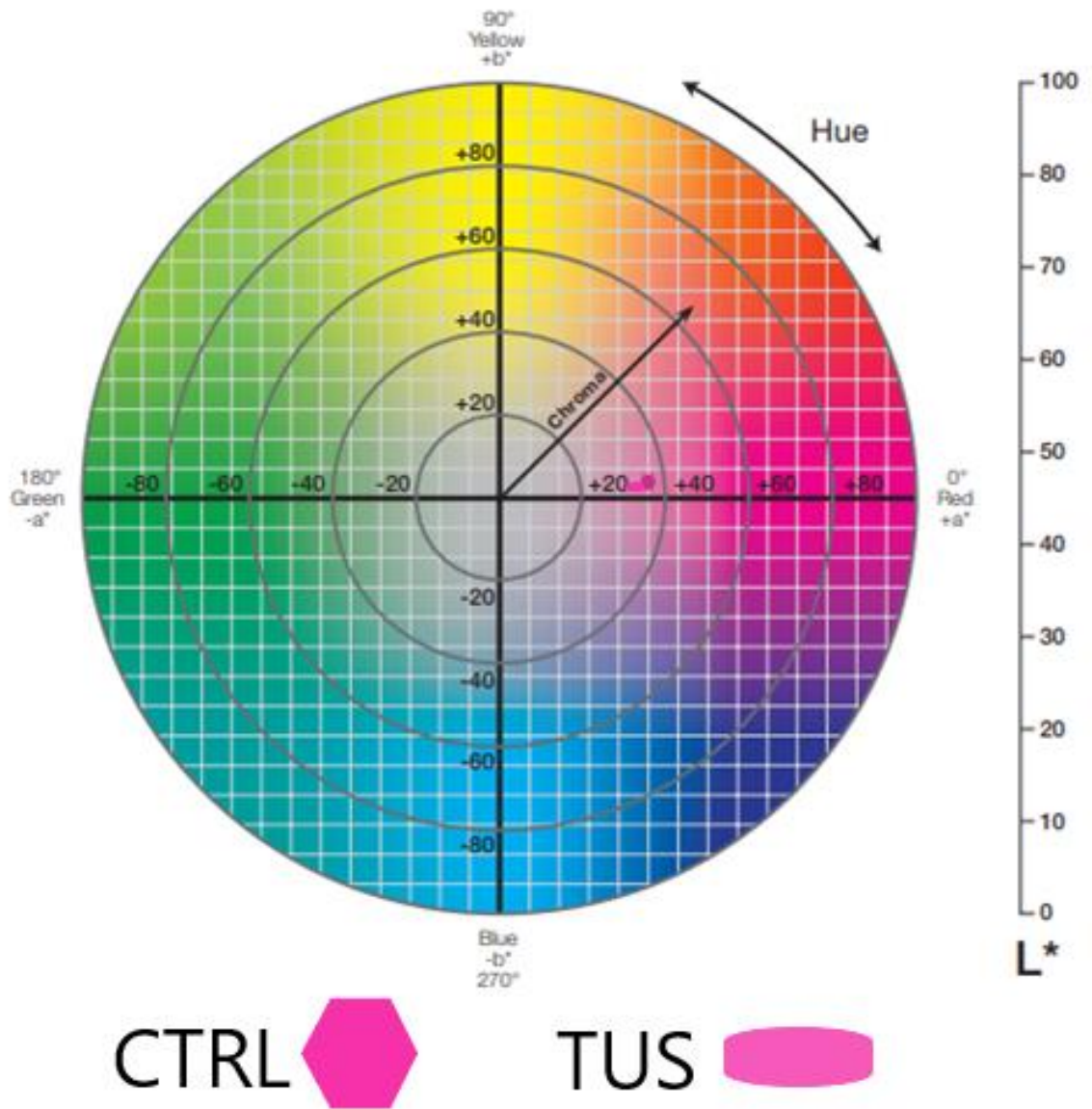


Figura 4. Espacio de color CIE L* a* b* (CIELAB). CTRL: control; TUS: termoultrasonificado.

6.3 Contenido de compuestos bioactivos

6.3.1 Betalainas

Las betalainas son pigmentos que se encuentran principalmente en la raíz del betabel, también están presentes en otras especies como espinaca malar, amaranto, pitahaya y tuna (Stintzing *et al.*, 2003; García *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2014; Güneşer, 2016; Celli & Brooks, 2017; Ciriminna *et al.*, 2018). Existen dos clasificaciones dentro de este grupo; betaninas y betaxantinas que hacen referencia a los pigmentos rojo-púrpura y amarillo-naranja, respectivamente (Stintzing *et al.*, 2006).

El contenido de betaxantinas y betaninas en el smoothie fueron de 23.96-33.91 mg EB/100 mL y 34.98-49.63 mg EB/100 mL, respectivamente (Tabla 7), obteniendo una ligera disminución entre los tratamientos para ambos compuestos, respecto a la muestra control (37.43 y 58.51 mg EB/100 mL, respectivamente), estos parámetros no se ajustaron al modelo matemático.

Una disminución similar a la de este estudio, se presentó en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, en donde el jugo fresco, obtuvo los resultados más altos en comparación con los tratamientos sometidos a termoultrasonido, tanto para betaninas y betaxantinas (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). En un jugo de pitaya ultrasonificado existió disminución en betaninas cuando se comparó con la muestra en fresco (Liao *et al.*, 2020). Y de acuerdo con el estudio de Manzur (2017) sobre cáscara de tuna ultrasonificado, reportó una ligera disminución entre algunos tratamientos.

Cómo se mencionó anteriormente en los resultados de color, las betalainas son termosensibles y al aplicar el tratamiento de ultrasonido se alcanzaron temperaturas >50°C, lo que provoca una hidrólisis que produce ácido betalámico y ciclo-dopa-5-O-glucósido (Tiwari *et al.*, 2009). Además, Muzaffar *et al.*, (2016) ha informado que, al aplicar ultrasonido, la presión del oxígeno reduce la estabilidad de las betalainas, produciendo degradación. Las betalainas se utilizan como aditivos en la industria alimentaria por sus propiedades de colorantes naturales y ausencia de toxicidad (Herbach *et al.*, 2006; Stintzing *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2003).

Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre contenido y propiedades antioxidantes

Tratamiento	Betaxantinas	Betaninas	*CFT	**ABTS	***DPPH
(%amplitud/min)	(mg EB/100 mL)	(mg EB/100 mL)	(mg EAG/100 mL)	(μ mol ET/100 mL)	(μ mol ET/100 mL)
Control	37.43 \pm 0.59	58.51 \pm 0.33	26.28 \pm 0.10	31.05 \pm 0.064	7.12 \pm 0.58
85%/20 min	32.49 \pm 1.61	47.89 \pm 0.60	26.65 \pm 0.55	29.33 \pm 1.00	48.52 \pm 0.41
62.5%/15 min	32.42 \pm 0.12	49.44 \pm 0.44	28.09 \pm 0.34	28.50 \pm 0.27	46.55 \pm 0.79
40%/10 min	27.55 \pm 0.23	40.26 \pm 0.00	28.61 \pm 0.68	27.53 \pm 0.17	44.52 \pm 0.44
62.5%/15 min	28.09 \pm 0.82	43.26 \pm 0.73	28.50 \pm 0.72	28.68 \pm 0.77	47.48 \pm 0.47
62.5%/15 min	23.96 \pm 0.20	34.98 \pm 0.65	28.09 \pm 1.31	29.29 \pm 0.43	47.59 \pm 0.32
94%/15 min	26.74 \pm 0.71	41.42 \pm 1.04	28.01 \pm 0.03	28.90 \pm 1.26	45.76 \pm 1.54
40%/20 min	32.62 \pm 0.62	49.63 \pm 2.14	30.53 \pm 1.46	27.93 \pm 1.33	46.75 \pm 0.41
62.5%/8 min	33.17 \pm 1.22	40.26 \pm 1.33	30.30 \pm 1.10	27.66 \pm 0.28	44.16 \pm 1.42
62.5%/15 min	33.91 \pm 0.00	46.44 \pm 4.07	28.72 \pm 0.31	28.90 \pm 0.88	47.39 \pm 0.37
62.5%/15 min	31.54 \pm 1.52	44.99 \pm 1.43	28.00 \pm 0.16	28.93 \pm 0.42	46.71 \pm 0.57
62.5%/22 min	29.71 \pm 0.82	42.87 \pm 1.33	29.08 \pm 0.51	28.36 \pm 0.55	47.36 \pm 1.30
85%/10 min	26.40 \pm 0.20	41.23 \pm 0.73	30.48 \pm 0.27	27.75 \pm 0.78	44.41 \pm 1.10
31%/15 min	28.23 \pm 0.35	41.81 \pm 0.93	28.47 \pm 0.28	27.23 \pm 0.90	44.72 \pm 0.77
R ²	0.19	0.25	0.96	0.9	0.92

\pm Desviación estándar, *CFT: Contenido de fenoles totales, **ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico), ***DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil.

Para el consumo de este compuesto bioactivo, no se ha reportado una ingesta diaria recomendada, sin embargo, Martínez *et al.*, (2020) informó que 100 mg/kg de colorante enriquecido con betalaínas exhibieron potentes acciones analgésicas y antiinflamatorias, en diferentes modelos de ratones con dolor e inflamación, aún faltan más estudios en humanos para evidenciar su efecto. De acuerdo con un estudio en extracto de betabel, el consumo de betalaínas se ha asociado con mejoramiento en pacientes con Alzheimer, ya que en esta patología existe aumento de beta-amiloide que es un fragmento que va unido a proteínas, que se acumula en el cerebro y al unirse con metales (Fe y Cu),

ocasiona inflamación y oxidación (Presley *et al.*, 2011). Ya que se ha reportado que el principal mecanismo de las betalaínas es la disminución de la oxidación (Hadipour *et al.*, 2006). Cabe recordar que el smoothie de este estudio contiene residuo de betabel, en donde las betalaínas le confiere características como colorante natural, y a su vez podría ser una alternativa de consumo para el beneficio a la salud anteriormente mencionado.

6.3.2 Contenido de fenoles

El contenido de compuestos fenólicos totales en las muestras arrojó valores de 26.55-30.53 mg EAG/100 mL, siendo mayores en comparación con el control (26.53 mg EAG/100 mL, como se muestra en la Tabla 7). Valores similares se reportaron, en jugos de sandía roja y amarilla ultrasonificado y de tuna púrpura termoultrasonificado, en donde el contenido de fenoles fue mayor en las muestras tratadas en comparación con la muestra control (Yıkmiş, 2020; Cruz-Cansino *et al.*, 2015). Mientras que en un jugo de pitaya termoultrasonificado, existió una reducción después del tratamiento (Liao *et al.*, 2019). En la pared celular están los compuestos fenólicos que se encuentran de forma soluble en la vacuola o unidos a trazas de pectina, hemicelulosa y lignina (Escarpa *et al.*, 2001). El ultrasonido permite la liberación de compuestos de la pared celular (Mason *et al.*, 1996), ocasionado por el colapso que genera la cavitación en el ambiente de partículas coloidales (Cheng *et al.*, 2014).

Este parámetro obtuvo una $R^2 \geq 0.96$, por lo que se ajustó al modelo matemático. De acuerdo con el coeficiente de regresión que se muestra en la Tabla 8, existe una influencia significativa ($p < 0.0001$) de la interacción entre tiempo y amplitud (β_{12}). Observándose en la figura 5, que a menor amplitud y tiempo de aplicación hubo una reducción en contenido de fenoles.

Tabla 8. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de contenido fenólico total y actividad antioxidante del smoothie termoultrasonificado.

Coeficiente	CFT* (mg EAG/100 mL)	ABTS ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$)	DPPH ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$)
β_0 (Intercepto)	28.28 ^a	28.86 ^a	47.144 ^a
β_1 (amplitud)	-0.332567 ^d	0.4977171 ^c	0.3913478
β_2 (tiempo)	-0.454418 ^c	0.3712437 ^c	1.3581854 ^b
β_{12} (amplitud*tiempo)	-1.4375 ^a	0.295	0.47
β_{11} (amplitud*amplitud)	0.005625	-0.373125 ^d	-0.8145 ^c
β_{22} (tiempo*tiempo)	0.730625 ^b	-0.400625 ^c	-0.5545 ^d

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

*CFT Contenido de fenoles totales

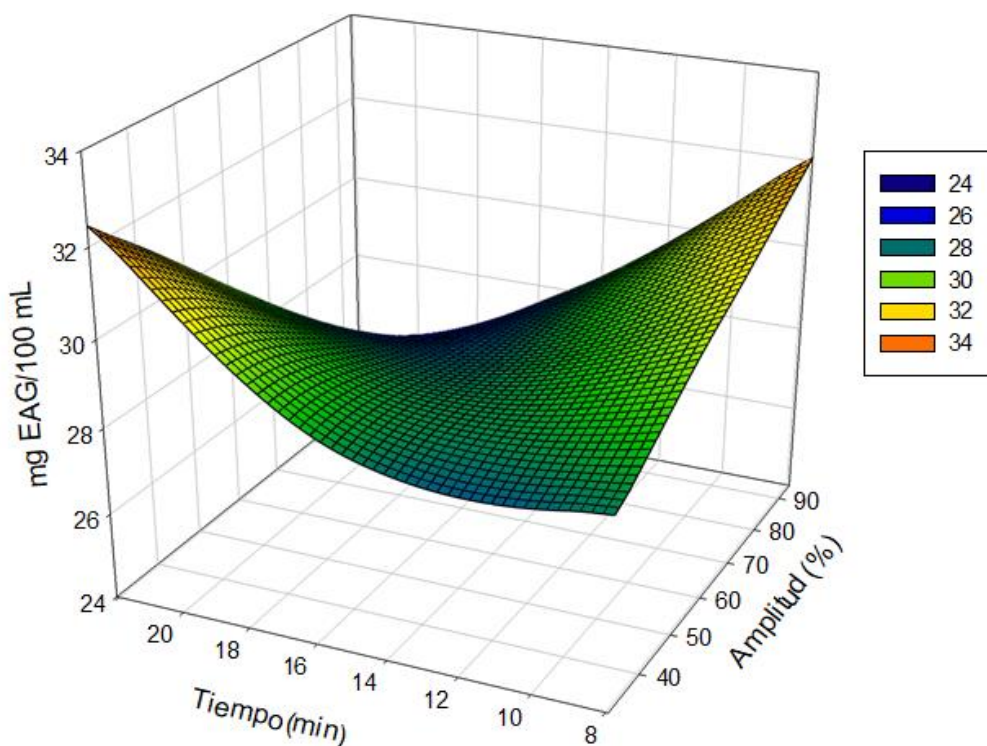


Figura 5. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido de compuestos fenólicos totales del smoothie.

En otras matrices se reportaron comportamientos diferentes, como lo realizado por Hernández (2020) en un residuo de betabel ultrasonificado, en donde influyó significativamente ($p < 0.001$) la interacción entre tiempo y amplitud, mostrando un aumento en el contenido de fenoles al incrementar estas variables. Mientras que, en jugo de cereza agria en donde utilizaron un diseño box behnken la temperatura y amplitud en su término lineal influyó significativamente ($p < 0.05$), generando un aumento en el contenido de fenoles (Türken *et al.*, 2017). Lo anterior se puede atribuir a que los productos alimentarios pueden hidroxilarse, a causa de la cavitación acústica generando un aumento en el contenido de fenoles, probablemente ocasionado por la adición de radicales hidroxilos en el anillo aromático de estos compuestos (Bhat *et al.*, 2011). Bo' *et al.*, (2019), ha reportado que la cantidad total de ingesta de fenoles para la población en general es de aproximadamente 900 mg/día. Por lo que, si se ingieren 250 mL de smoothie de este estudio, aporta 7.8% de la recomendación, el contenido de fenoles en el smoothie es poco, sin embargo, el consumo de este compuesto bioactivo en una dieta, debe estar proporcionada por diferentes alimentos, este smoothie podría contribuir en la dieta. Se ha demostrado que los fenoles tienen efectos benéficos en la salud sobre las enfermedades no transmisibles, una de ellas es la protección contra cáncer de colón (Larsen *et al.*, 2009), mediante mecanismos, como eliminación de agentes cancerígenos, regulación de la señalización de las células cancerosas y de la actividad enzimática (Adams *et al.*, 2009), ya que modula la actividad de las vías de la señalización de MAPK quinasa y PI3 quinasa, involucradas en la proliferación de células cancerosas (Fang & Richardson, 2015).

6.4 Actividad antioxidante por ABTS y DPPH

Los resultados obtenidos mediante la técnica de ABTS mostraron una ligera disminución en los tratamientos termoultrasonificados con respecto al control (31.05 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$). La muestra tratada a 31% amplitud y tiempo de ultrasonido de 15 min arrojó el valor mínimo (27.23 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$, Tabla 7). En la actividad antioxidante por DPPH, se puede apreciar un aumento de los tratamientos termoultrasonificados (44.16-48.52 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$) frente a la muestra fresca (7.12 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$). Estos resultados concuerdan con lo señalado en néctar de guanábana termoultrasonificado tanto para ABTS como DPPH (Hernández, 2020). Mientras que en jugo de tuna púrpura termoultrasonificado existió un comportamiento contrario al de este estudio en ABTS, pero similar en DPPH (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). Ramírez (2015), obtuvo un comportamiento contrario en jugo de betabel termoultrasonificado. En smoothie de frutas (manzana, fresa, plátano y naranja) y jugo de tomate ultrasonificado, se reportó para DPPH un ligero aumento (Keenen *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2020), lo cual concuerda con lo obtenido en este estudio. En jugo de tomate se presentó un aumento en DPPH después del tratamiento de ultrasonido, y lo atribuyen a los compuestos fenólicos y ácido ascórbico presentes en este alimento (Wang *et al.*, 2015). Los resultados para fenoles en el smoothie TUS presentaron un aumento, por lo tanto, esto puede relacionarse con el aumento en DPPH.

Con relación al coeficiente de regresión (Tabla 8), la actividad antioxidante por ABTS tuvo una R^2 de 0.90, se aprecia que la amplitud y el tiempo en sus términos lineales, así como tiempo en su término cuadrático arrojaron un nivel de significancia de $p < 0.01$. En la figura 6a se presenta el efecto del termoultrasonido sobre esta variable, observándose que a mayor porcentaje tanto de amplitud como de tiempo mayor fue la actividad antioxidante. Por otro lado, en DPPH se encontró una influencia significativa de $p < 0.001$ en el tiempo en su término lineal, reflejando que a mayor tiempo aumenta la actividad antioxidante (Figura 6b). En néctar de guanábana termoultrasonificado se encontraron resultados similares en ABTS, por el contrario, en DPPH las variables de tiempo en su término cuadrático, así como amplitud*tiempo tuvieron niveles significativos de $p < 0.0001$ y $p < 0.05$, respectivamente (Hernández, 2020). López (2018), en aguamiel termoultrasonificada reportó para ABTS que el tiempo en su término lineal influyó de

manera significativa ($p < 0.0001$), lo cual fue similar al smoothie. En cuanto a DPPH, el tiempo en su término lineal tuvo un nivel de significancia de $p < 0.0001$, sin embargo, mostró un comportamiento distinto al de este estudio. En jugo de betabel termoultrasonido en la variable de ABTS, la amplitud en su término lineal afectó significativamente ($p < 0.001$). Mientras que para DPPH se reflejó un comportamiento distinto, ya que el tiempo en su término cuadrático afectó significativamente ($p < 0.05$) (Ramírez, 2020). La mayor actividad antirradical entre los tratamientos TUS, es atribuida al efecto de la sonicación sobre los fenoles, generando hidroxilación en las posiciones orto o para, incrementando su actividad antioxidante en DPPH como en ABTS (Ashokkumar *et al.*, 2008).

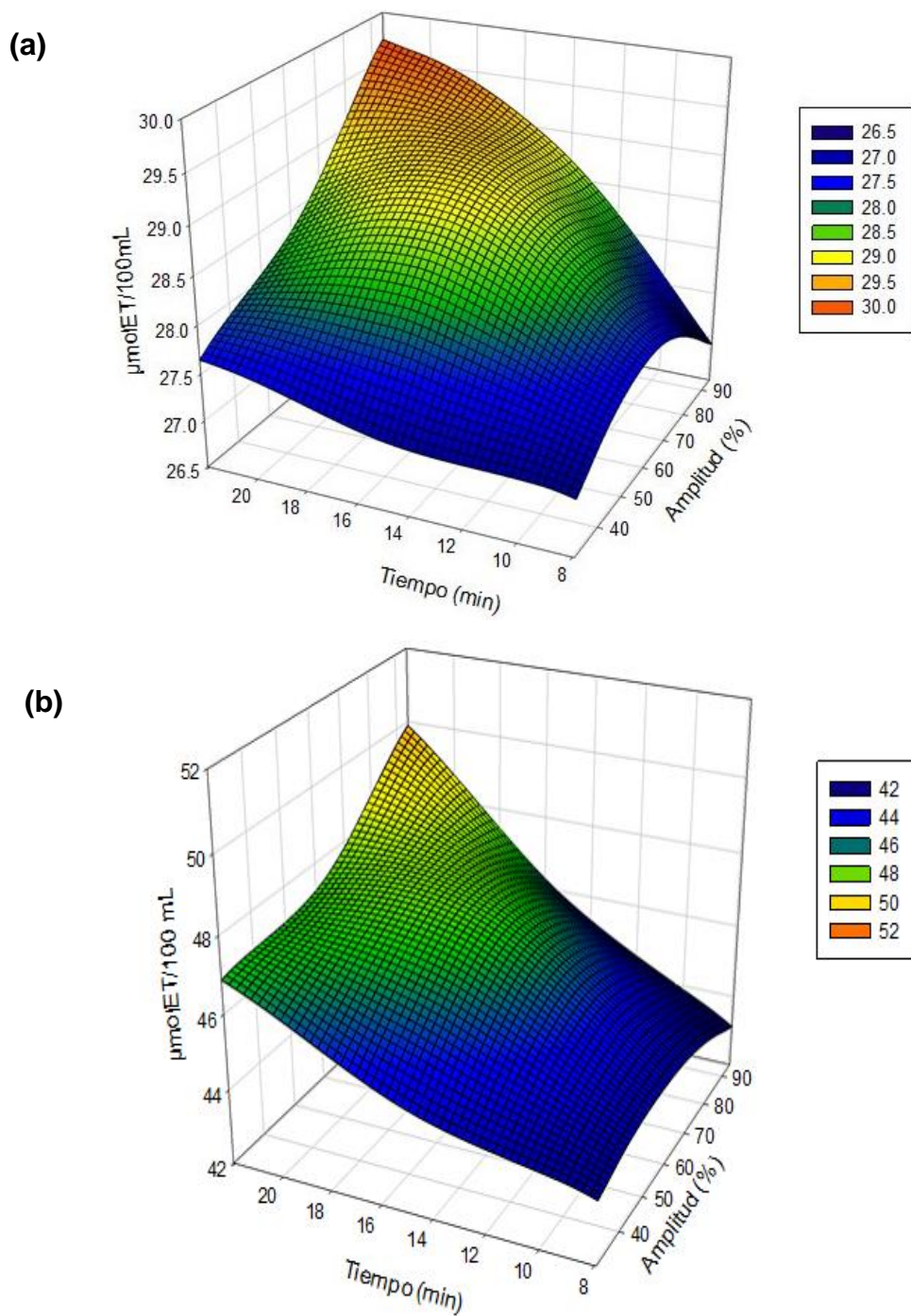


Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre la actividad antioxidante del smoothie medida por el método de ABTS (a) y DPPH (b).

6.5 Optimización del proceso de termoultrasonido del smoothie

Mediante el programa JMP se obtuvieron valores predichos de las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático (Tabla 9), así como la condición óptima del proceso de termoultrasonido, la cual fue 62.5% de amplitud con un tiempo de 15 min de aplicación. Para visualizar la condición óptima de proceso se elaboraron figuras de contorno mediante la utilización del programa SigmaPlot, y se traslaparon como se muestra en la figura 7, para una identificación de los valores obtenidos en la condición óptima del proceso, el contenido fenólico total fue de 28.28 mg EAG/100 mL, actividad antioxidante por ABTS de 28.86 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ y DPPH de 47.14 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$.

Tabla 9. Valores de predichos por el modelo de superficie de respuesta

Determinaciones	Valor predicho
Contenido Fenólico Total (mg EAG/100 mL)	28.28 \pm 0.32
ABTS ($\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$)	28.86 \pm 0.30
DPPH ($\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$)	47.14 \pm 0.55

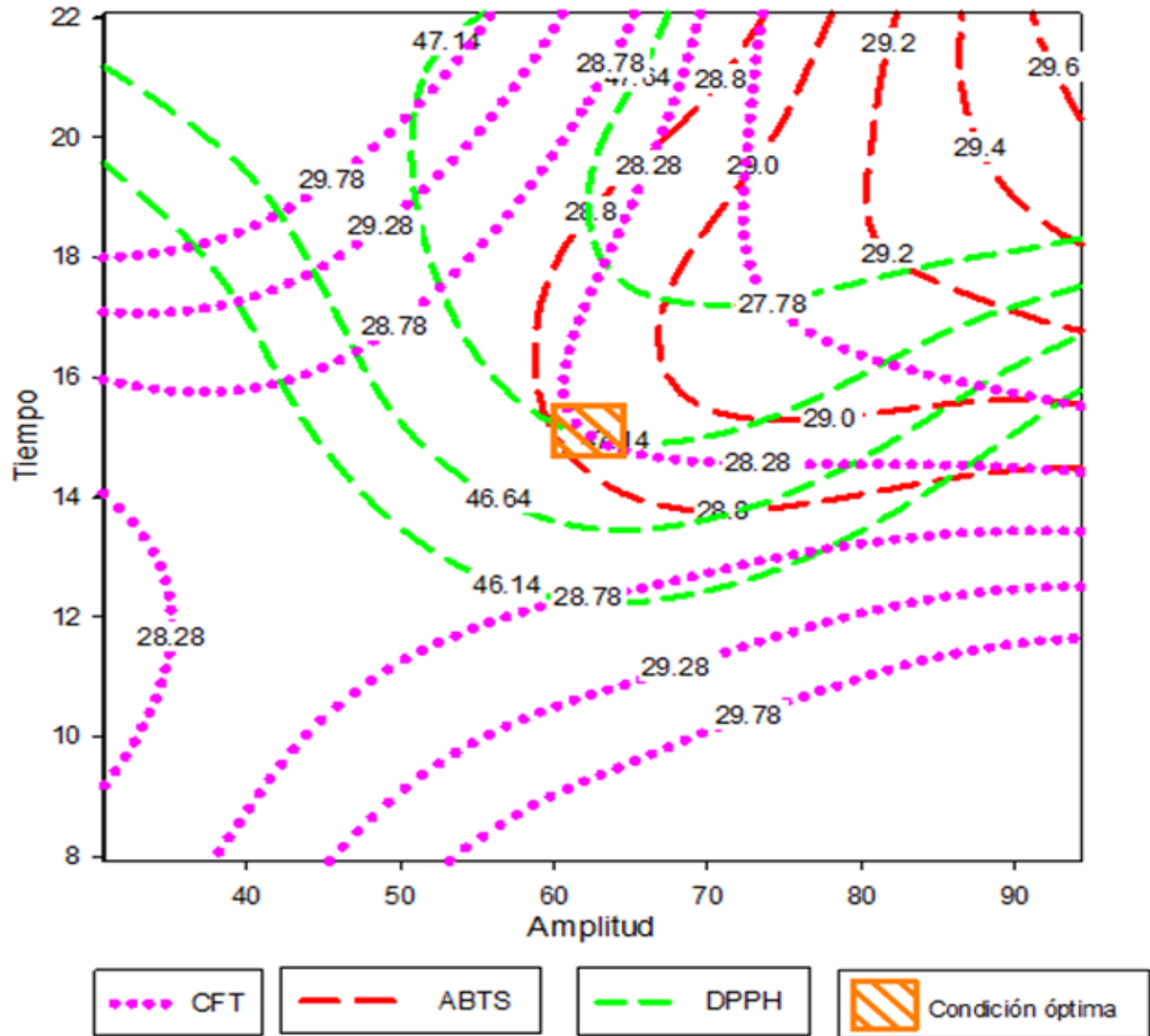


Figura 7. Traslape de figuras de contorno de las variables de respuesta en la optimización por termoultrasonido del smoothie.

De acuerdo a una búsqueda en base a referencias bibliográficas, sobre la composición nutricional de la materia prima (bebida vegetal de cáñamo, zarzamora, residuo de betabel y stevia) (SMAE, 2014; USDA, 2018, Shyamala & Jamuna, 2010), que se utilizó para la elaboración del presente smoothie se diseñó una tabla nutrimental en proporción de 100 y 250 mL

Tabla 10. Composición nutricional de una bebida tipo smoothie termoultrasonificado

Nutriente	100 mL	250 mL
Carbohidratos*	20.54	51.37
Proteína (g)*	4.6	11.5
Lípidos (g)*	3.14	7.87
Azúcares (g)*	5.32	13.3
Kcal*	102.1	244.2
Fibra (g)*	2.46	6.16
Fenoles (mg)**	28.28	70.7
ABTS (mg)**	28.86	72.1
DPPH (mg)**	47.14	117.9

*Datos calculados con tablas de composición nutrimental (USDA, 2018, SMAE, 2014; Shyamala & Jamuna, 2010). **Datos obtenidos en el presente trabajo.

Finalmente, en la dieta de una persona adulta (18 a 30 años) con un requerimiento calórico de 2000 kcal, el consumo de 250 mL, contribuye con un aporte importante de proteínas con hasta un 13.8% de dicho requerimiento, aportados por la semilla de cáñamo y el betabel, de carbohidratos simples y complejos como la fibra, así como compuestos antioxidantes.

La OMS establece un consumo de 25 a 30 g/día de fibra en población adulta. El contenido de fibra es alto (6.16 g), por lo que el consumo de una porción de 250 mL representa hasta en un 24% de las recomendaciones establecidas por la OMS.

El contenido de azúcares simples en la bebida resulta ser elevado, ya que contiene 5.32 g/100 g. En una bebida de 250 mL el contenido presenta hasta 13.3 g, sin embargo, son azúcares provenientes de los alimentos utilizados como son principalmente fructosa y glucosa, provenientes del betabel y de la zarzamora y no de azúcares añadidos. El

producto fue endulzado con Stevia lo que no representa una mayor contribución a las calorías totales.

El contenido calórico (244.2 kcal), es aportado principalmente por los azúcares disponibles, por lo tanto, podría resultar una bebida adecuada para personas físicamente activas y atletas, pues para esta población sus requerimientos son más altos. Como se mencionó anteriormente, en la condición óptima de proceso de termoultrasonido, los valores de fenoles fueron de 28.28 mg EAG/100 mL aportando una actividad antioxidante importante en la bebida. Es importante hacer mención de que no existe una recomendación de ingesta diaria de polifenoles, aunque Bo' *et al.*, (2019), ha reportado que la cantidad total para la población en general es de aproximadamente 900 mg/día, por lo que, en 250 mL de este smoothie, aportaría 7.8% de la recomendación de ingesta. Finalmente, esta bebida contiene compuestos bioactivos como la fibra dietética, proteína y compuestos fenólicos (tocoferoles, carotenoides, fitoesteroles y betalaínas), y antioxidantes dados por los ingredientes que constituyen la bebida, sin embargo, es importante la realización de futuros estudios para complementar esta información.

7. Conclusiones

Los tratamientos de termoultrasonido generaron la reducción de mesófilos aerobios y enterobacterias, viscosidad y sólidos solubles totales, sin cambios en los parámetros fisicoquímicos en (acidez titulable e índice de estabilidad y color). A su vez el tratamiento, afecta de manera negativa el contenido de betalaínas (betaninas y betaxantinas) así como la actividad antioxidante por ABTS, mientras que aumenta el contenido fenólico total y la actividad antioxidante por DPPH.

El modelo de superficie de respuesta indica que tanto la variable respuesta de contenido fenólico total, así como la actividad antioxidante por ABTS y DPPH se ajustan al modelo matemático ($R^2 \geq 90-92$), por tanto, este modelo matemático permite obtener la condición óptima de proceso de termoultrasonido sobre estas variables de respuesta.

Los valores predichos del modelo de superficie de respuesta, arrojan que la condición óptima del proceso de termoultrasonido, es de 62.5% de amplitud y 15 minutos para las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático (contenido fenólico total, actividad antioxidante por ABTS y DPPH).

Por lo anterior, el termoultrasonido demostró en el smoothie, ser una tecnología emergente que reduce la actividad microbiana, mejorando las propiedades fisicoquímicas como la viscosidad e índice de estabilidad, así como sólidos solubles, parámetros que aumentan la aceptación por parte del consumidor. Aporta compuestos fenólicos que se han asociado a enfermedades no transmisibles, por lo que esta bebida se podría integrar en una dieta habitual, ofertando un producto con mejores características nutricionales y funcionales que las que se ofrecen en el mercado. De acuerdo a los resultados de la búsqueda bibliográfica sobre la composición nutricional, podría representar una buena fuente de proteínas, grasas saludables y fibra dietética.

8. Perspectivas futuras

Los resultados de este trabajo dan pauta a continuar con los siguientes análisis en el smoothie termoultrasonificado comparado con un pasteurizado:

Análisis químico proximal, así como determinar el aporte calórico, análisis del perfil de ácidos grasos, identificación y cuantificación de compuestos bioactivos.

9. Referencias bibliográficas

- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M., Wu, T., Lei, S., Khan, M. A. & Zeng, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984-990.
- Adams, L.S., & Chen, S. (2009). Phytochemicals for breast cancer prevention by targeting aromatase. *Frontiers in Bioscience*, 14, 3846-3863.
- Amador, E., Chávez, O., Cruz, C., Suárez, J., Gutiérrez, M., Valencia, F., & Velázquez, E., (2020). Thermosonication parameter effects on physicochemical changes. *Journal of food Science and Technology*, 57, 1680-1688.
- Andre, C., Hausman, J., & Guerriero, G. (2016). *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(19).
- Annegowda, V., Mordi, N., Ramanathan, S., Hamdan, R., & Mansor, S. M. (2011). Effect of extraction techniques on phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of baubhinia purpurea: HPTLC determination of antioxidants. *Food Analytical Methods*, 5(2), 226–233.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC International; 920.151 (Solids (Total) in fruits and fruit products); 940.26 (Ash of fruits and fruit products); 942.15 (Acidity Titratable of fruit products). 16a ed. (1999).
- Apostol, L. (2017). Studies on using hemp seed as functional ingredient in the production of functional food products. *Journal of EcoAgriTourism*, 13(1), 12-17.
- Arai, S. (1996). Studies on functional foods in Japan state of the art. *Bioscience Biotechnology and Biochemical*, 60(1), 9-15.
- Arvanitoyannis, I., S., Kotsanopoulos, K., V., & Savva, A., G. (2015). Use of ultrasounds in the food industry—Methods and effects on quality, safety, and organoleptic characteristics of foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1), 109–128.
- Aular, J., Ruggiero, C., & Durigan, J. (2002). Relación entre el color de la cáscara y las características del fruto y jugo de la parchita maracuyá. *Bioagro*, 14(1), 47-51.

- Awad, T., S., Moharram, H., A., Shaltout, O., E., Asker, D., & Youssef, M., M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48, 410–427.
- Barberán, T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. Grupo de investigación en calidad, seguridad y bioactividad de alimentos de origen vegetal, cebas (csic). *Alimentación Nutrición Salud*, 10(2), 41-53
- Barbosa, C., G., & Bermúde, A., D., (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. *Scientia Agropecuaria*, 1(1), 81-93.
- Bates, D., & Price, J. (2015). Impact of fruit smoothies on adolescent fruit consumption at school. *Health Education & Behavior*, 42(4), 487–492.
- Bates, D., Bagnall, W., & Bridges, M. (2006). Method of treatment of vegetable matter with ultrasonic energy. (Patente de Estados Unidos. No. US20060110503A1). Mars Inc. USPTO. <https://patents.google.com/patent/US20060110503/>
- Bermúdez, A., D., & Barbosa, C., G. V. (2012). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 383–392.
- Bhat, R., Kamaruddin, C., Min-Tze, L., & Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6), 1295–1300.
- Bjarnadottir, A. (2015). Beetroot 101: Nutrition Facts and Health Benefits. Healthline.
- Buckin, V., O'Driscoll B., & Smyth C. (2003). Ultrasonic Spectroscopy for material analysis. Recent advances. *Spectroscopy Europe*, 15(1), 20-25.
- Cai, Y., Z., Sun, M., Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 2288–2294.
- Callaway, J., C. (2004). Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140(2), 65– 72.

- Campoli, S., Rojas, L., do Amaral, J., Canniatti, B., & Augusto, P. (2018). Ultrasound processing of guava juice: Effect on structure, physical properties and lycopene in vitro accessibility. *Food Chemistry*, 268, 594–601.
- Castañeda, C., B., Ramos, LL., E., & Ibáñez, V., L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico*, 8(1),56-72.
- Castellar, M. (2003). Properties and stability of betacyanins from opuntia fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2772–2776.
- Castellar, R., Obón, J., Alacid, M., & Fernández, L. (2003). Color properties and stability of betacyanins from Opunia fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2772–2776.
- Castorena, G., Martínez, M., Robles, L., Welti, C., Hernandez, S., & Robles, T. (2013). Effect of electric fields on the activity of polyphenol oxidases. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12, 1665 – 2738.
- Celli, B., Brooks, M. (2017). Impact of extraction and processing conditions on betalains and comparison of properties with anthocyanins. *Food Research International*, 100, 501-509.
- Chatterjee, G., Dutta, A., & Das, S. (2015). Formulation and statistical evaluation of a ready-to-drink wheybased orange beverage and its storage stability. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14 (2), 253-264.
- Chemat, F., N., Rombaut, A., Meullemiestre, M., Turk, S., Perino, A., S., Fabiano, T., & Abert, V. (2017). Review of green food processing techniques. preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 357-377.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M., K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.
- Cheng, L., Soh, C., Liew, S., & Teh, F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104(4), 1396–1401.

- Cheng, X., Aghikari, B., & Zhang, M. (2014). Changes in quality attributes of strawberry purees processed by power ultrasound or thermal treatments. *Food Science and Technology Research*, 20(5), 1033-1041.
- Chich, Kliber, Koz, Biskupski y Grygorowicz. (2002). Thyroid hormone levels and metabolic changes after treated rats with hemp milk. *Pozna Agricultural University*, 1-7.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Danzì, C., Timpanaro, G., Ilharco, L. M., & Pagliaro, M. (2018). Betanin: A Bioeconomy Insight into a Valued Betacyanin. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(3), 2860–2865.
- Clarke, R. C., & Watson, D. P. (2002). Botany of natural Cannabis medicines. *Cannabis and cannabinoids: pharmacology, toxicology and therapeutic potential*, 3-13.
- Codex Alimentarius (1997). Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos. Codex Stan 21-1997, 1-7. Disponible en: http://www.fao.org/ag/agn/cdfruits_es/others/docs/cac-rcp1-1969.pdf
- Condón, S., Raso, J. & Pagán, R. (2005). Microbial inactivation by ultrasound. *Novel Food Processing Technologies*, 423-442.
- Cruz-Cansino, N., Montiel-Columna, N. I., Bautista-Velueta, P. G., Pérez-Tinoco, M. R., Alanís-García, E., & Ramírez-Moreno, E. (2016). Optimization of Thermoultrasound conditions for the processing of a prickly pear juice blend (*Opuntia ficus indica*) using response surface methodology. *Journal of Food Quality*, 39(6), 780-791.
- Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., León-Rivera, J. E., Delgado-Olivares, L., Alanís-García, E., Ariza-Ortega, J. A., Manríquez-Torres, J. J., & Jaramillo-Bustos, D. P. (2015). Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 277-286.

- Escarpa, A., González, M., Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica* 427, 119-127.
- Fallourd, M., J., & Viscione, L. (2009). Ingredient selection for stabilisation and texture optimisation of functional beverages and the inclusion of dietary fibre. *Functional and Speciality Beverage Technology*, 3–38.
- Fang, J.Y., Richardson, B.C. (2005). The MAPK signalling pathways and colorectal cancer. *Lancet Oncology*, 6, 322-327.
- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., & Merendino, N. (2020). The Seed of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. *Nutrients*, 12(7), 1-59.
- Feng, H., Yang, W., & Hielscher, T. (2008). Power Ultrasound. *Food Science and Technology International*, 14(5), 433–436.
- Frassinetti, S., Moccia, E., Caltavuturo, L., Gabriele, M., Longo, V., Bellani, L., Giorgetti, L. (2018). Nutraceutical potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 262, 56–66.
- García, A. G. M. (2017). Hemp: a composition. *Food Science and Nutrition*, 10, 1-85.
- García, C. Salinas, M., & Valle, G. (2012). Betalains, phenolic compounds and antioxidant activity in pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(5), 1-5.
- Gliszczyńska, A. (2006). Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays, *Food Chemistry*, 96(1), 131–136.
- Gronroos, A., Kyllonen, H., Korpijarvi, K., Pirkonen, P., Paavola, T., Jokela, J., & Rintala, J. (2005). Ultrasound assisted method to increase soluble chemical oxygen demand of sewage sludge for digestion. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12(2), 115–120.

- Guimarães, T., Silva, K., Costa, R., Cunha, R., Freitas, M., Meireles, M., & Cruz, A. (2018). Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. *Food Hydrocolloids*, 77, 787–795.
- Güneer O. (2016). Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry*, 196, 220-227.
- Herbach, K., M., Stintzing, F., C., Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71, 41–50.
- Herceg, Z., Markov, K., Sobota, Š., Režek, J., & Vukušić, T. (2013). Effect of high intensity ultrasound treatment on growth of food spoilage bacteria. *Food Technology Biotechnology*, 51(3), 352 –359.
- Hernández, T. (2020). 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 licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- House, J. D., Neufeld, J., & Leson, G. (2010). Evaluating the quality of protein from Hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(22), 11801–11807.
- Jackman, R., L., Smith, J., L. (1996). Anthocyanins and betalains in: natural food colorants; Hendry, G.A.F.; Houghton, J.D.; Eds.; Chapman: London, 244–309.
- Jeske, S., Zannini, E., & Arendt, K. (2016). Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(1), 26–33.
- Jiang, X., Jiang, T., Gan, L., Zhang, X., Dai, H., & Zhang, X. (2012). The plasticizing mechanism and effect of calcium chloride on starch/poly (vinyl alcohol) films. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1677–1684.
- Keenan, D., Tiwari, K., Patras, A., Gormley, R., Butler, F., & Brunton, P. (2012). Effect of sonication on the bioactive, quality and rheological characteristics of fruit smoothies. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(4), 827–836.

- Kreft, M, Zorec, R, Janes, D, & Kreft, S. (2009). Histolocalisation of the oil and pigments in the pumpkin seed. *Annals of Applied Biology*, 154(3), 413- 418.
- Kushwaha, R., Singh, V., Puranik, V., Kaur, S., & Kaur, D. (2020). Potencial applications of ultrasound in food processing. *Indian Food Industry Magazine*, 2(5), 50-63.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- Larsen, C.A.; Dashwood, R. H. (2009). Suppression of Met activation in human colon cancer cells treated with epigallocatechin-3-gallate: Minor role of hydrogen peroxide. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 389, 527-530.
- Liao, H., Zhu, W., Zhong, K., & Liu, Y. (2019). Evaluation of colour stability of clear red pitaya juice treated by thermosonication. *Food Science and Technology*, 121, 2-8.
- Lin, C., H., Lin, M., & Sun, Y., N. (2007). Ultrasound motion estimation using a hierarchical feature weighting algorithm. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 31(3), 178–190.
- Maghsoudlou, Y., Alami, M., Mashkour, M., & Shahraki, H. (2015). Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 828-839.
- Mäkinen, O. E., Wanhalinna, V., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2015). Foods for special dietary needs: Non-dairy plant-based milk substitutes and fermented dairy-type products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(3), 339–349
- Manzur, V. (2017). Capacidad antioxidante y propiedad funcional de la fibra de cáscara de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) ultrasonificada para el desarrollo de una gelatina. (Tesis de maestría). UAEH.
- Martínez, N., Del Mar, C., & Martínez, L. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12(2), 64–68.
- Mason, T. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3), 253–260.

- Mathieu, P. (1980). Chanvre (hemp). *Techniques Agricoles*, 5, 1-10.
- McCartney, D., Rattray, M., Desbrow, B., Khalesi, S., & Irwin, C. (2018). Smoothies: Exploring the attitudes, beliefs and behaviours of consumers and non-consumers. *Current Research in Nutrition*, 6, 425–436
- Ministry for Primary Industries. (2019). Global Hemp Markets: Product and consumer landscapes. Economic Intelligence Unit.
- Mohideen, F., Solval, K., Li, J., Zhang, J., Chouljenko, A., Chotiko, A., & Sathivel, S. (2015). Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. *Food Science and Technology*, 60(1), 563–570.
- Morales, F.J., & Jiménez-Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 119–125.
- Morales, P., Rosas, G., Martín, B., Welti, C. (2018). Changes in bioactive compounds concentration and physicochemical properties of mango smoothies treated by ultrasound. *Revista Mexicana de Ingeniería*, 17(1), 131-144.
- Muzaffar, S., Ahmad, M., Wani, M., Gani, A., Baba, W, Shah, U., & Wani, A. (2016). Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). *Journal of Food Science and Technology*, 53(6), 2752–2759.
- Neveu, V., Perez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., & Scalbert, A. (2010). Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database*, 02-09.
- Nguyen, H., Anema, G. (2010). Effect of ultrasonication on the properties of skim milk used in the formation of acid gels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 616-622.
- Oliveira, R., L., Almeida, A., Carvalho, C., Borguini, R., Ferreira, J., Freitas, P., & Matta, M. (2018). Effect of processing on bioactive compounds, physicochemical and rheological characteristics of juçara, banana and strawberry Smoothie. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(3), 222–227.

- Palamidis, N. & Markakis P. 1978. Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. *Industrie delle Bevande*, 7: 106-109.
- Paniwnyk, L. (2017). Applications of ultrasound in processing of liquid foods. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794-806.
- Peng, J., Tang, J., Barrett, M., Sablani, S., Anderson, N., & Powers, J. (2017). Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(14), 2970-2995.
- Peterson, G. L. (1979). Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. *Analytical Biochemistry*, 100(2), 201–220.
- Peterson, L. (1979). Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. *Analytical Biochemistry*, 100(2), 201–220.
- Pokhrel, P. R., Bermúdez, A., Martínez, F., Garnica, R., Sablani, S., Tang, J., & Barbosa, C. (2017). Combined effect of ultrasound and mild temperatures on the inactivation of E. coli in fresh carrot juice and changes on its physicochemical characteristics. *Journal of Food Science*, 82(10), 2343–2350.
- Re, R., Pellegrini N, Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-7.
- Rezapour, F. (2013). Immunomodulatory and therapeutic effects of Hot-nature diet and co-supplemented hemp seed, evening primrose oils intervention in multiple sclerosis patients. *Complementary Therapies in Medicine*.
- Ribeiro, L., Brígida, S., Sá, F., Carvalho, C., Silva, L., Matta, V. M., & Freitas, S. P. (2019). Effect of sonication on the quality attributes of juçara, banana and strawberry smoothie. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 5531–5537.
- Rojas, A., & Andres, A. (2000). Extracto Colorante de Tuna Púrpura (*Opuntia ficus indica* L.): obtención y comparación con un colorante comercial de betarraga (*Beta vulgaris* var. Hortensis L.). Tesis (ingeniero agrónomo) Universidad de Chile.

- Rojas, L., Leite, S., Cristianini, M., Alvim, D., & Augusto, D. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22–33.
- Saguy, I., Kopelman, J., & Mizrahi, S. (1978). Simulation of ascorbic acid stability during heat processing and concentration of grapefruit juice. *Journal of Food Process Engineering*, 2, 213–225.
- Sala, F. J., Burgos, J., Condón, S., Lopez, P., & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. *New Methods of Food Preservation*, 176–204.
- Salve, R., Pegu, K., Arya, S. (2019). Comparative assessment of high-intensity ultrasound and hydrodynamic cavitation processing on physico-chemical properties and microbial inactivation of peanut milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 59.
- Sánchez-Zapata, E., Fernández-López, J., Peñaranda, M., Fuentes-Zaragoza, E., Sendra, E., Sayas, E., & 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.
- Sanderson, B. (2004). *Applied sonochemistry– the uses of power ultrasound in chemistry and processing*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 79(2), 207–208
- Santhirasegaram, V., Razali, Z., & Somasundram, C. (2013). Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1276-1282.
- Seeram, P., Adams, L., Zhang, &, Lee, R., Sand, D., Scheuller, S., Heber, D. (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cell in vitro. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 54,9329–9339.
- Seshadri, R., Weiss, J., Hulbert, G.J., Mount, J., 2003. Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions. *Food Hydrocolloids* 17, 191-197.

- Shankar, R., Kaushik, U., & A-Bhat, S. (2014). The Emerging technology in the sector of food technology-the non-thermal technology. *IJIAS* 2014, 6, 941–958.
- Shimizu, M. (2014). History and Current Status of Functional Food Regulations in Japan. *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and Around the World*, 257–263.
- Slavov, A., Karagyozev, 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.
- Small, Ernest & Marcus, David. (2003). *Economic Botany*. Vol. 57, No. 4, pp. 545-558.
- Steffe, J. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. (2da. ed.). Michigan, Estados Unidos. Freeman Press.
- Stintzing, F., C., Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 19–38.
- Stintzing, F., Schieber, A, & Carle, R. (2003) Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *Eur. Food Res. Technol.* 216(4), 303-311.
- Stintzing, F., Trichterborn, J., & Carle, R. (2006). Characterisation of anthocyanin-betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses. *Food Chemistry*, 94(2), 296-309.
- Strahsburger, E., Retamales, P., Estrada, J., & Seeger, M. (2016). Método de la microgota: usado con agar cromogénico es un procedimiento útil para el monitoreo sanitario en acuicultura. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 742-749.
- Strik, B., J. Clark, C. Finn, & P. Bañados. (2007). Producción mundial de moras. *Horticulture Technology*, 17, 205-213.
- Supeno, & Kruus, P. (2000). Sonochemical formation of nitrate and nitrite in water. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7(3), 109–113.

- Tang, C.-H., Ten, Z., Wang, X.-S., & Yang, X.-Q. (2006). Physicochemical and Functional Properties of Hemp (*Cannabis sativa*L.) Protein Isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8945–8950.
- Tavolieri, J. (2018). Total consumer report. The Nielsen Company.
- Thi Hong Bui, A., Cozzolino, D., Zisu, B., & Chandrapala, J. (2020). Effects of high and low frequency ultrasound on the production of volatile compounds in milk and milk products – a review. *Journal of Dairy Research*, 87(4), 501–512.
- Tiwari, K., O'Donnell, P., & Cullen, J. (2009). Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 166–171.
- Türken, T., & 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: National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release. (2018). Basic Report Blackberries, raw.
- Vahanvaty, U. S. (2009). Hemp Seed and Hemp Milk. *Infant, Child, & Adolescent Nutrition*, 1(4), 232–234
- Vantreese, L. (1998). Industrial Hemp: Global Markets and Prices. Department of Agricultural Economics, University of Kentucky.
- Vercet, A., Burgos, J., Crelier, S., Lopez, B. (2001). Inactivation of proteases and lipases by ultrasound. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 2(2), 139-150.
- Vonapartis, E., Aubin, M., P., Seguin, P., Mustafa, A. F., & Charron, J., B. (2015). Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 8–12.
- Walstra, P., Wouters, M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology* 2, 159–169. Boca Ratón.
- Wang, J., Vanga, S., & Raghavan, V. (2019). High-intensity ultrasound processing of kiwifruit juice: Effects on the ascorbic acid, total phenolics, flavonoids and antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 1-20.

- Yashwant, K. (2015). Beetroot: A Super Food. 1, 20-26. *International Journal Engineering Studies and Technical Approach*
- Yıkmiş S, Bozgeyik E, Şimşek MA. (2020). Ultrasound processing of verjuice (unripe grape juice) vinegar: effect on bioactive compounds, sensory properties, microbiological quality and anticarcinogenic activity. *Journal of Food Science Technoly*, 57(9), 3445-3456.
- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villanueva-Sánchez, J., & Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.
- Zenker, M., Heinz, V., & Knorr, D. (2003). Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*, 66, 1642-1649.
- Zhao X. (2010). Research of self-adaptive Chroma Space Model Skin-color Algorithm Based on Illumination and its application to erotic webpage filtering. *International Conference on Networking and Digital Society*, 13-17.
- Zhao, B., Basir, A., & Mittal, S. (2003). Correlation Analysis Between Beverage Apparent Viscosity and Ultrasound Velocity. *International Journal of Food Properties*, 6(3), 443–448.
- Zia-Ul-Haq, M., Riaz, V., De Feo, H., & Moga, M. (2014). Rubus Fruticosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules*, 19, 10998-11029.
- Zou, Y., Xie, C., Fan, G., Gu, Z., & Han, Y. (2010). Optimization of ultrasound-assisted extraction of melanin from *Auricularia auricula* fruit bodies. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 611–615.