

# **UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA**

Escuela de Ingeniería

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

**DOCTORADO EN CIENCIA DE ALIMENTOS**



**“Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante”**

**Tesis que, en cumplimiento parcial de los requisitos para obtener el grado de Doctor en Ciencia de Alimentos, es presentada por**

**M.I.Q. Oscar Jiménez González**

**Director: Dr. José Ángel Guerrero Beltrán**

**Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla**

**Primavera 2023**




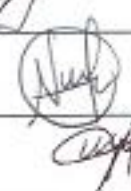





Nombre del estudiante: Oscar Jiménez González

ID: 164704

Nombre del director de tesis: Dr. José Ángel Guerrero Beltrán

Título de la tesis: "Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante"

Integrantes del Comité Doctoral	Firma
Dr. Aurelio López Malo	
Dr. Nelly Ramírez Corona	
Dr. Paola Hernández Carranza	
Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco	
Dr. José Ángel Guerrero Beltrán	

Los integrantes del Comité Doctoral expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de Doctorado en Ciencia de Alimentos anteriormente descrita, por lo que estamos de acuerdo en que se proceda a generar la versión definitiva de la tesis y programar el examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.

Fecha y hora de examen: viernes 12 de mayo de 2023 a las 9:00 h

Lugar: BI-310



# Índices

## Índice general

Índice general .....	iv
Índice de figuras .....	xvi
Índice de tablas .....	xx
Agradecimientos.....	1
Esquema de la tesis.....	2
Resumen general.....	5
General abstract .....	7
1. Introducción.....	9
Referencias .....	14
2. Justificación general .....	20

3. Objetivo general .....	22
3.1 Objetivos específicos por capítulo.....	22
4. Artículos .....	24
Capítulo I.....	25
Extracción, Microencapsulación, Propiedades de Color, y Diseños Experimentales usados para la Obtención de Pigmentos mediante Secado por Aspersión .....	25
Resumen .....	25
Introducción.....	26
Pigmentos naturales.....	27
Secado por aspersión .....	29
Métodos de extracción para pigmentos naturales.....	31
Extracción por métodos físicos .....	32
Extracción por métodos químicos .....	34
Métodos no convencionales.....	36
Extracción con métodos asistidos.....	38
Extracción por métodos biológicos no convencionales.....	41
Concentración.....	42
Calentamiento.....	44
Pretratamientos biológicos .....	45

Métodos de homogenización .....	55
Agitación magnética .....	55
Agitación mecánica ( <i>high shearing</i> ).....	56
Otros .....	57
Algunos agentes encapsulantes .....	57
Maltodextrina y algunas mezclas con maltodextrina .....	58
Goma de mezquite .....	60
Algunos mucílagos .....	61
Fructanos .....	62
Otros agentes .....	62
Valores de color de los pigmentos microencapsulados .....	63
Color .....	63
Degradación de color.....	66
Valores de color para pigmentos microencapsulados.....	76
Diseños experimentales para incrementar los pigmentos encapsulados .....	78
Diseño experimental.....	78
Diseño factorial completo.....	80
Diseño factorial fraccionado.....	80
Diseño <i>Plackett-Burman</i> .....	81



Diseño central compuesto.....	82
Diseño <i>Box-Behnken</i> .....	83
Diseño de mezclas <i>simplex-centroide</i> o <i>simplex-lattice</i> .....	84
<i>Taguchi design</i> .....	86
Usos .....	87
Observaciones finales .....	91
Referencias .....	91
Capítulo II.....	110
Microencapsulados de los compuestos bioactivos del jugo fermentado de <i>Stenocereus pruinosus</i> usando maltodextrina, goma arábica y goma de mesquite como agentes encapsulantes .....	110
Resumen .....	110
Introducción.....	111
Materiales y Métodos .....	114
Materiales .....	114
Pre-tratamiento de jugo de pitaya.....	114
Inóculo .....	114
Fermentación y concentración del jugo.....	115
Diseño experimental .....	116

Proceso de encapsulación .....	116
Características físicas del jugo concentrado .....	117
Compuestos bioactivos en el jugo concentrado y en los polvos.....	118
Cuantificación de betalaínas .....	119
Actividad antioxidante (DPPH).....	119
Compuestos fenólicos totales .....	120
Análisis estadístico .....	121
Resultados.....	121
Características del jugo de pitaya fermentado y concentrado .....	121
Características del polvo.....	123
Rendimiento, humedad y $a_w$ .....	123
Densidad de los polvos .....	124
Color de los polvos .....	125
Tamaño de las partículas .....	128
Compuestos bioactivos de los pigmentos microencapsulados .....	130
Betalaínas totales .....	130
Compuestos fenólicos.....	130
Actividad antioxidante.....	131
Discusión .....	132

Rendimiento .....	132
Humedad.....	133
Actividad del agua ( $a_w$ ).....	133
Densidades de los polvos.....	134
Color de los polvos.....	134
Tamaño de las partículas .....	135
Compuestos bioactivos.....	135
Conclusión.....	137
Referencias .....	138
Capítulo III .....	144
Estabilidad térmica y al pH de pigmentos de <i>Justicia spicigera</i> (Muicle): Uso de modelos probabilístico-matemáticos para predecir su estabilidad.....	144
Resumen .....	144
Introducción.....	145
Materiales y Métodos .....	148
Extracción y secado de los pigmentos.....	148
Ajuste del pH de las soluciones.....	149
Evaluación del color en las soluciones.....	149
Estabilidad térmica del color .....	151

Predicción del Tiempo-de-Falla (TTF).....	153
Análisis estadístico .....	154
Resultados y discusión .....	154
Color de las soluciones al tiempo cero .....	154
Cambios en el color debido a la temperatura .....	157
Efecto de la temperatura en el color .....	161
Tiempo-de-falla: enfoque del tiempo de viabilidad .....	167
Conclusiones.....	171
Referencias .....	172
Capítulo IV .....	178
Microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión de leche entera y descremada fermentada con <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> GG adicionada con extracto de Muicle ( <i>Justicia spicigera</i> ) utilizando goma de mezquite como agente encapsulante .....	178
Resumen .....	178
Introducción.....	179
Materiales y Métodos .....	182
Materiales .....	182
Extracción y concentración de compuestos de <i>Justicia spicigera</i> .....	183
Preparación del inóculo .....	183

Tratamientos .....	184
Fermentación .....	184
Secado por aspersión .....	185
Caracterización de los pigmentos encapsulados.....	185
Humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) .....	185
Color .....	185
Tamaño de partícula .....	186
Recuento de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> .....	186
Compuestos bioactivos .....	187
Compuestos fenólicos totales .....	187
Antocianinas monoméricas totales .....	188
Capacidad antioxidante.....	189
Análisis estadístico .....	190
Resultados y discusión .....	191
Retención de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> .....	191
Características de los polvos .....	192
Humedad y actividad de agua.....	192
Características de color.....	195
Tamaño de partícula .....	196

Compuestos bioactivos de los polvos.....	199
Compuestos fenólicos totales .....	199
Contenido de antocianinas.....	200
Capacidad antioxidante.....	201
Análisis de componentes principales (PCA) .....	203
Conclusión.....	206
Referencias .....	208
Capítulo V .....	215
<i>Diospyros digyna</i> (Zapote negro) Mexican unappreciated fruit: A review .....	215
Resumen .....	215
Introducción.....	215
Zapote negro ( <i>Diospyros digyna</i> ).....	217
Descripción.....	218
Nombres comunes y nombres locales (menos comunes).....	219
Características físicas de la fruta .....	220
Características fisicoquímicas de la pulpa.....	222
Cambios fisicoquímicos y bioquímicos durante la maduración.....	226
Características bioactivas .....	231
Compuestos aromático .....	232

Consumo de zapote negro.....	233
Características medicinales.....	234
Características anticancerígenas .....	236
Características antimicrobianas .....	237
Otros usos .....	237
Observaciones finales .....	237
Referencias .....	238
Capítulo VI.....	245
Obtención y aplicación de pigmentos color caramelo de la pulpa de Zapote negro ( <i>Diospyros digyna</i> ) .....	245
Resumen .....	245
Introducción.....	246
Materiales y métodos.....	249
Material vegetal .....	249
Preparación de la pulpa de zapote negro .....	249
Fermentación y extracción de pigmentos .....	249
Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales .....	250
DPPH .....	250
ABTS .....	252

FRAP .....	253
Compuestos fenólicos totales .....	254
Encapsulación mediante secado por aspersión.....	254
Propiedades físicas de los pigmentos encapsulados .....	255
Rendimiento .....	255
Humedad y actividad de agua.....	255
Color.....	255
Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales.....	256
Tamaño de partícula .....	256
Estabilidad del color a diferentes valores de pH y temperatura .....	256
Aplicación de los pigmentos .....	258
Preparación de las gomitas .....	258
Determinación del color en las gomitas .....	258
Evaluación sensorial.....	259
Análisis estadístico .....	260
Resultados y discusión .....	260
Características físicas de los microencapsulados .....	260
Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales.....	264
Estabilidad del color de los pigmentos reconstituidos .....	267



Aplicación de los pigmentos en gomitas .....	269
Color .....	269
Evaluación sensorial .....	272
Conclusiones.....	273
Contribuciones de los autores.....	274
Conflicto de intereses .....	275
Agradecimientos.....	275
Referencias .....	275
5. Conclusiones generales.....	281
6. Recomendaciones generales .....	283
7. Anexos .....	285
7.1. Publicaciones .....	285
7.2. Evidencias de participación en congresos .....	293

# Índice de figuras

## Capítulo I

**Figura 1.** Características y factores de estabilidad de algunos pigmentos (antocianinas, betalainas clorofilas, y carotenoides). La inestabilidad se representó de alta a baja con una a tres flechas hacia arriba .....28

**Figura 1.** Características y factores de estabilidad de algunos pigmentos (antocianinas, betalainas clorofilas, y carotenoides). La inestabilidad se representó de alta a baja con una a tres flechas hacia arriba (*continuación*) .....29

**Figura 2.** Resumen del proceso de secado por aspersion (adaptado de Bakry et al., 2016; Huang, 2011; Santos et al., 2018) ..... 31

**Figura 3.** Extracción de compuestos por métodos físicos (adaptado de Kuvings ©, 2020) .....33

**Figura 4.** Extracción de compuestos por métodos químicos o solventes (Soto-Sierra, Wilken, & Dixon, 2020) .....36

**Figura 5.** Extracción de compuestos por método asistido por microondas (adaptado de Li, Fabiano-Tixier, Vian, & Chemat, 2013) .....38

**Figura 6.** Extracción de compuestos por método asistido por ultrasonidos (adaptado de Peredo Pozos et al., 2020) .....39

**Figura 7.** Extracción de compuestos por el método de tratamiento enzimático (adaptado de Krakowska-Sieprawska et al., 2020) .....42

**Figura 8.** Schematic considerations to *Hue* value calculation. ....65

**Figura 9.** Grafica para los valores de color reportados como Chrome vs. *Hue* (el color de fondo no corresponde con el color real). ....77

## Capítulo II

**Figura 1.** Diagramas de contorno de la influencia de los materiales de encapsulación (maltodextrina, MDX, goma de mezquite, MG, y goma arábica, GA) sobre a) Rendimiento, b), Contenido de humedad, c)  $a_w$ , d) *Hue*, e) *Croma*, f) Betalaínas totales, g) Compuestos fenólicos, h) Actividad antioxidante.....126

**Figure 2.** Ajuste de los modelos polinómicos para el rendimiento, humedad, actividad de agua, propiedades de color (*Hue*, *Croma*) y compuestos antioxidantes (betalaínas, polifenoles y actividad antioxidante) .....127

**Figura 3.** Tamaño de partícula del polvo obtenido de las diferentes formulaciones de jugo de pitaya hidrolizado por fermentación a) MDX, b) MG, c) GA, d) MDX-MG, e) MDX-GA, f) MG-GA, g) MDX-MG-GA, h) Boxplots del tamaño de partícula (los cuartiles inferior y superior aparecen como una caja, y los valores mínimos y máximos como bigotes) .....129

## Capítulo III

**Figura 1.** Efecto del pH y temperatura (°C) en el espectro (400 – 750 nm) de las soluciones de *Justicia spicigera* a diferentes pHs: a) 2, b) 4, c) 8, d) 10, e) 12 y temperaturas (después 420 min): 40 °C (línea amarilla), 60 °C (línea naranja) y (línea roja) 80 °C (red line). La línea negra corresponde a los valores iniciales en el espectro una vez que el pH se ajustó a temperatura ambiente. ....157

**Figura 2.** Evolución del color ( $a^*$  vs  $b^*$ ) como efecto del pH para las soluciones de *J. spicigera*: pH 2 (▲●■), 4 (▲●■), 8 (▲●■), 10 (▲●■), 12 (▲●■) y temperatura a) ▲ 40, b) ● 60, c) ■ 80 °C. entre más cercanos los puntos en el gráfico, menor degradación fue observada. Los valores d) iniciales y e) finales fueron graficados por separado para mejor visualización. ....161

**Figura S1.** a) Cinética de degradación de primer orden para *Hue* de las soluciones de *J. spicigera* a diferentes valores de pH: 2 (●), 4 (●), 8 (●), 10 (●), 12 (●) durante el tratamiento térmico a 60°C (temperatura intermedia). b) grafica de Arrhenius para las constantes de degradación de *Hue*. ....166

**Figura 3.** Tiempo-de-Falla para: a) cambio visual del color ( $\Delta E$ ) y b) cambios en el tono del color ( $Hue_{20}$ ) de pigmentos de *Justicia spicigera* a diferentes valores de pH y temperatura. ....170

## Capítulo IV

**Figura 1.** Distribución de tamaño de partícula de los polvos producidos mediante secado por aspersión de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar. a) FWJ, b) FSJ, c) FWSAJ, d) FSSAJ, e) WJ, f) SJ, g) JM.....198

**Figura 2.** Correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de los microencapsulados de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar adicionada con *J. spicigera*.....202

**Figura 3.** Biplot del análisis de componentes principales (PCA) para los polvos FWJ, FSJ, FWSAJ, FSSAJ, WJ, SJ, JM. Las variables incluyeron características físicas (humedad (moisture), actividad de agua (aw), luminosidad (L), rojo-verde (a), amarillo-azul (b), matiz o tono (*Hue*), saturación de color (*Croma*)), de tamaño de partícula (tamaño mínimo (T-min), tamaño máximo (T-max), d10, d50, d90, Span, distribución de tamaño de partícula (D[4, 3] y D[3, 2]), antioxidantes (capacidad antioxidante (AC), compuestos fenólicos totales (TPC), antocianinas totales (TA)), y microbiológicas (*Lactocaseibacillus rhamnosus* (Lr)). Cada línea representa la intensidad o magnitud para cada componente.....204

## Capítulo V

**Figura 1.** Propiedades farmacológicas de los principales compuestos encontrados en la pulpa de zapote negro. ....236

## Capítulo VI

**Figura 1.** Distribución de tamaño de partícula del polvo de pulpa de zapote negro: a) sin fermentar y fermentado con b) *L. casei*, c) *L. rhamnosus* and c) *S. cerevisiae*.....264

**Figure 2.** Capacidad antioxidante (a) DPPH mg TE/g db, (b) FRAP mg Fe(II)/g db, (c) ABTS mg TE/g bs) y compuestos fenólicos totales (d) mg GAE/g db)) de las muestras fermentadas antes del secado (izquierda) y después del secado (derecha). WF es el control sin fermentación. Lc, Lr, y Sc corresponde a las muestras fermentadas con *L. casei*, *L. rhamnosus* y *S. cerevisiae*, respectivamente.....266

**Figura 3.** Ositos de gomita sin pigmentos (control) y después de la adición de pigmentos de pulpa de zapote negro: sin fermentación (WF) y después de la fermentación con *L. casei* (Lc), *L. rhamnosus* (Lr), y *S. cerevisiae* (Sc) a distintos niveles (1, 3, 5%) de pigmento.....270

**Figura 4.** Parámetros *Hue* y *Croma* para ●WF, ■Lc, ▲Lr, ◆Sc a los tres niveles de pigmentos adicionados a los ositos de gomita. ....272

**Figure 5.** Boxplot para la relación entre el color y la salud de los ositos de gomita coloreados con pigmentos de zapote negro. Control o si fermentación (WF), y/o fermentados con *L. casei* (Lc), *L. rhamnosus* (Lr), y *S. cerevisiae* (Sc) a diferentes niveles de pigmentos (1, 3, and 5%).....273

# Índice de tablas

## Capítulo I

**Tabla 1.** Encapsulación de pigmentos (fuente, extracción de pigmentos, homogeneización y condición de secado) con diferentes materiales de pared y parámetros de color. ....48

**Tabla 2.** Modelos cinéticos de degradación de pigmentos encapsulados mediante secado por aspersión durante su almacenamiento. ....69

**Tabla 3.** Aplicación de pigmentos microencapsulados .....90

## Capítulo II

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas del jugo fermentado y concentrado de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) ajustado a aproximadamente 5 °Bx.....122

**Tabla 2.** Diseño experimental y resultados del rendimiento y las propiedades físicas del polvo del jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fermentado.....124

**Tabla 3.** Coeficientes de cada respuesta para el rendimiento, el contenido de humedad, la actividad del agua, las características de color (*Hue, Cromo*) y los compuestos bioactivos del jugo de pitaya en polvo.....125

**Tabla 4.** Propiedades de color del polvo de jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fermentado.....128

<b>Tabla 5.</b> Compuestos bioactivos de los polvos de jugo de pitaya fermentado.....	131
---	-----

### Capítulo III

<b>Tabla 1.</b> Valores iniciales de los parámetros de color de los extractos de <i>J. spicigera</i> ajustados a diferentes pHs <sup>a</sup> .....	155
--	-----

<b>Tabla 2.</b> Valores finales para los parámetros de color de los extractos de <i>J. spicigera</i> ajustados a diferentes valores de pH después del procesamiento térmico durante 420 min <sup>a</sup> . .....	160
---	-----

<b>Table 3.</b> Parámetros cinéticos para la degradación térmica de los pigmentos naturales de <i>Justicia spicigera</i> a diferentes valores de pH. ....	165
---	-----

<b>Tabla 1S.</b> Tiempo-de-Falla para el cambio visual del color ( $\Delta E$ ) y cambios en el tono del color ( $Hue_{20}$ ) de pigmentos de <i>Justicia spicigera</i> a diferentes valores de pH y temperatura <sup>a</sup> . .....	169
--	-----

### Capítulo IV

<b>Tabla 1.</b> Contenido de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> en solución (antes del secado) y microencapsulado (después del secado) de leche fermentada y sin fermentar adicionada con <i>J. spicigera</i> .....	193
--	-----

<b>Tabla 2.</b> Propiedades físicas de las microencapsulados de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar adicionada con <i>J. spicigera</i> .....	194
---	-----

<b>Tabla 3.</b> Compuestos bioactivos de los microencapsulados de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> de leche entera y descremada, fermentada o no fermentada adicionada con <i>J. spicigera</i> .....	200
---	-----

## Capítulo V

<b>Tabla 1.</b> Nombres comunes y no comunes de <i>Diospyros digyna</i> en México y El Salvador. ....	221
<b>Tabla 2.</b> Algunas propiedades físicas y características de color de frutos de zapote negro ( <i>D. digyna</i> ) maduro. ....	222
<b>Tabla 3.</b> Características fisicoquímicas y de composición de <i>D. digyna</i> . ....	224
<b>Tabla 4.</b> Minerales y vitaminas de fruto de <i>D. digyna</i> .....	226
<b>Tabla 5.</b> Enzimas presentes en frutos de zapote negro ( <i>Diospyros digyna</i> ) al sexto día de almacenamiento .....	228
<b>Tabla 6.</b> Pigmentos y compuestos fenólicos en la pulpa de zapote negro ( <i>D. digyna</i> )...	230
<b>Tabla 7.</b> Compuestos volátiles y notas aromáticas del zapote negro. ....	232

## Capítulo VI

<b>Tabla 1.</b> Propiedades físicas del polvo de pulpa de zapote negro fermentado.....	261
<b>Tabla 2.</b> Estabilidad de color de los pigmentos de zapote negro a diferentes pHs después del tratamiento térmico (120°C) por 1 hora.....	269



# Agradecimientos

A mi madre Pilar González que me apoyó y animó todo este tiempo, a mi padre Carlos Jiménez, aunque ya no estes con nosotros. Mis hermanos Aldo, Paola y Mauricio, mi sobrina Alison quien en especial no entiende porque me gusta ir a la Universidad. Mis amigos, Julio, Mariana y Bere. Mis compañeros de generación Julio, Scarlette y Jorge y al resto de mis compañeros del doctorado en especial a Gabriela, Rocio, Laura y Rosita. A todos los profesores y doctores que conocí durante estos años, Dr. José Ángel Guerrero-Beltrán, Dr. Aurelio Lopez-Malo, Dra. Nelly Ramirez-Corona, Dra. Maritere Jiménez-Munguia, Dr. Jocksan Morales-Camacho y Dra. Beatriz Mejía-Garibay quienes me apoyaron, aconsejaron y guiaron tanto en la vida como en lo académico y que ahora puedo llamar colegas y amigos. Al jurado de defensa de tesis Dra. Paola Hernandez Carranza y Dr. Carlos E. Ochoa Velazco. Y en especial a mi asesor de tesis y ahora amigo el Dr. Guerrero Beltrán, por sus consejos, regaños y platicas que me ayudaron a culminar con este proyecto.

# Esquema de la tesis

El presente trabajo se encuentra organizado en diferentes secciones. En todas ellas resalta el uso de fuentes naturales para la extracción de pigmentos, la encapsulación mediante secado por aspersión y de ser posible su uso en matrices alimenticias como colorante. El trabajo se organizó de la siguiente forma, “Introducción general” la cual presenta el trabajo de forma sencilla. Seguido por los objetivos y la justificación del trabajo. Continúa con la presentación de seis capítulos que corresponden a manuscritos publicados, enviados o en revisión para su publicación en diferentes *journals* (revistas indexadas).

El Capítulo 1 recopila información acerca del secado por aspersión de pigmentos, desde su extracción utilizando métodos convencionales y no convencionales, pretratamientos aplicados al extracto antes de la encapsulación, propiedades de color, diseños experimentales aplicados útiles para explorar las mejores condiciones de secado, así como el uso de diferentes agentes encapsulantes. En el Capítulo 2, se evalúa el uso de pigmentos de pitaya roja (*Stenocereus pruinosus*) y diferentes agentes encapsulantes usados para la encapsulación de betalaínas, junto con la aplicación de pretratamientos (fermentación con *Saccharomyces cerevisiae*) para resolver problemas tecnológicos asociados al secado. En el Capítulos 3 y 4

se presenta i) la estabilidad de pigmentos de muicle o muiltle (*Justicia spicigera*) en función del color a factores como el pH, temperatura y tiempo; y ii) la encapsulación de pigmentos de muicle (*Justicia spicigera*) haciendo uso de la fermentación con bacterias ácido-lácticas (*Lacticaseibacillus rhamnosus*) para fomentar el cambio de pH y con ello el cambio de color, al mismo tiempo utilizar proteínas lácteas como agente de recubrimiento. El quinto Capítulo corresponde a una revisión hasta la fecha del fruto de zapote negro (*Diospyros digyna*), donde se mencionan características generales, su composición fisicoquímica y factores que la pueden afectar, algunos metabolitos como pigmentos, compuestos aromáticos y sus usos. Finalmente, en el Capítulo 6, se evalúa la extracción de pigmentos de zapote negro (*Diospyros digyna*) usando la fermentación con diferentes cepas de microorganismos (*L. rhamnosus*, *Lactobacillus casei* y *Saccharomyces cerevisiae*), para incrementar los compuestos antioxidantes, la encapsulación y su aplicación en una matriz alimenticia. Dado que cada capítulo se publicó o envió a diferentes revistas, el formato puede variar entre capítulos. La referencia completa de cada capítulo se incluye a continuación:

### **Capítulo 1**

Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). Extraction, microencapsulation, color properties, and experimental design of natural pigments obtained by spray drying. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 769-811. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7>

### **Capítulo 2**

Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2022). Microencapsulates of *Stenocereus pruinosus* Fermented Juice and their Bioactive Compounds Using Maltodextrin, Gum

Arabic, and Mesquite Gum as Carrier Agents. *Food Science and Technology*, 10(3), 75–88.

<https://doi.org/10.13189/fst.2022.100302>

### **Capítulo 3**

Jiménez-González, O., López-Malo, A., González-Pérez, J. E., Ramírez-Corona, N., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2023). Thermal and pH stability of *Justicia spicigera* (Mexican honeysuckle) pigments: Application of mathematical probabilistic models to predict pigments stability. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 6, 100158.

<https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100158>

### **Capítulo 4**

Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2022). Microencapsulates by spray of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG from fermented whole or skimmed cow's milk added with Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*) extract using mesquite gum as carrier agent.

*Heliyon*, 8(9), e10733. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10733>

### **Capítulo 5**

Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). *Diospyros digyna* (black sapote), an Undervalued Fruit: A Review. *ACS Food Science & Technology*, 1(1), 3-11.

<https://doi.org/10.1021/acscfoodscitech.0c00103>

### **Capítulo 6**

Jiménez-González, O., González-Pérez, J., Mejía-Garibay, B., López-Malo, A., and Guerrero-Beltrán, J. A. (2023) Caramel colour pigments from black sapote (*Diospyros digyna*): obtention and food application (*En revisión*).

## Resumen general

Debido a que el color es uno de los aspectos más importantes en la industria alimentaria, el uso de pigmentos para sustituir colorantes artificiales es ampliamente estudiado. El uso de fuentes no convencionales o poco estudiadas, que además son autóctonas, ayuda a darle mayor valor a los cultivos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue utilizar fuentes naturales para la obtención de pigmentos, microencapsularlos mediante secado por aspersión y superar los diferentes retos tecnológicos asociados a cada material. Durante este estudio se trabajó con pitaya roja (*Stenocereus pruinosus*), muicle (*Justicia spicigera*) y zapote negro (*Diospyros digyna*) para la obtención de betalaínas de color rojo, antocianinas que pueden presentar diferentes colores y una mezcla de pigmentos con tonos cafés, respectivamente. Haciendo uso de la fermentación con levaduras se logró la encapsulación de los pigmentos de pitaya, ya que con ello se redujo la viscosidad mediante la hidrólisis del mucílago presente en el fruto. A su vez, el uso de levaduras ayudó al incremento de compuestos con actividad antioxidante en la pulpa de zapote negro. Esta misma fue fermentada con bacterias ácido-lácticas, las cuales ayudan notablemente al incremento de compuestos antioxidantes ( $p < 0.05$ ). De igual forma, la fermentación con bacterias ácido-lácticas permite la

probiotificación y el cambio de color de antocianinas por cambios en el pH para pigmentos de muicle. Los cuales se demostró su estabilidad a diferentes condiciones de pH y temperatura, haciendo uso de moldeos probabilísticos, donde la zona de estabilidad para este tipo de pigmentos se encuentra a pH neutros o cercanos a 8. Además, el secado por aspersión, utilizando goma de mesquite como agente encapsulante, permite la obtención de polvos química y microbiológicamente estables con alto potencial bioactivo debido a los compuestos presentes en cada fruto más los generados durante la fermentación. La goma de mesquite, junto con otros agentes, puede mejorar las propiedades de los polvos debido a la aportación de sus propiedades físicas de cada uno de los agentes al producto final. Los pigmentos encapsulados pueden ser utilizados en la industria alimentaria, como se evidenció en el uso de pigmentos de zapote negro en productos de confitería, como son las gomitas. Estas tuvieron una alta aceptabilidad sin importar la concentración de pigmento añadido ( $p > 0.05$ ). La gran variedad de frutas y plantas en México puede ser una buena opción para la extracción de pigmentos, con lo que se incrementaría su consumo, generaría oportunidades en la producción y desarrollo agrícola y aumentaría el valor de los frutos.

## General abstract

Due to the fact that color is one of the most important aspects in the food industry, the use of pigments to replace artificial dyes is widely studied. The use of unconventional or little-studied sources, which are also native, helps to give greater value to crops. Therefore, the objective of this work was to use natural sources for pigment extraction, microencapsulate them by spray drying, and overcome the different technological challenges associated with each material. During this study, red pitaya (*Stenocereus pruinus*), muitle (*Justicia spicigera*), and black zapote (*Diospyros digyna*) were used to obtain betalains of red color, anthocyanins that can present different colors, and a mixture of pigments with brown tones, respectively. The encapsulation of pitaya pigments was achieved through yeast fermentation, as this reduced viscosity by hydrolyzing the mucilage present in the fruit. In turn, the use of yeast helped to increase compounds with antioxidant activity in the pulp of black zapote. This was fermented with lactic acid bacteria, which significantly increased antioxidant compounds ( $p < 0.05$ ). Likewise, fermentation with lactic acid bacteria allows probiotification and color change of anthocyanins due to changes in pH in pigments from muitle. Which stability was demonstrated under different pH and temperature conditions,

using probabilistic modeling where the stability zone for these types of pigments was found at neutral pH or close to 8. Additionally, spray drying, using mesquite gum as encapsulating agent, allows the obtainment of chemically and microbiologically stable powders with high bioactive potential due to the compounds present in each fruit and those that can be generated during fermentation. Mesquite gum, in combination with other types of agents, can improve the properties of powders due to the contribution of their physical properties of each of the agents to the final product. Encapsulated pigments can be used in the food industry, as evidenced by the use of black zapote pigments in confectionery products, such as gummies. These had high acceptability regardless of the concentration of added pigment ( $p > 0.05$ ). The great variety of fruits and plants in Mexico can be a good option for pigment extraction, which would increase their consumption, generate opportunities in agricultural production and development, and increase the value of fruits.



## 1. Introducción

El color en los alimentos está relacionado con la expectativa del consumidor (aparición, sabor y aroma esperados), intensidad de sabores o atributos como la dulzura (Clydesdale, 1993; DuBOSE et al., 1980; Gilbert et al., 1996; Kemp & Gilbert, 1997; Porcherot et al., 2013; Spence et al., 2010), la acidez, lo salado, entre otros. Además, es una característica física de aceptabilidad y está involucrado en la sensación de placer y en la evocación de emociones o sentimientos (Clydesdale, 1993; Gilbert et al., 2016; Porcherot et al., 2013). La intensidad o saturación del color actúa como un factor de calidad (DuBOSE et al., 1980). Sin embargo, la mayoría de los procesos en alguna de sus etapas durante la producción de alimentos afecta al color (Ling et al., 2015; Ribeiro & Veloso, 2021). Por lo que en muchos casos, es necesaria la adición de colorantes alimentarios para estandarizar, recuperar, mejorar, incrementar el color (Gilbert et al., 2016; Scotter, 2011) o dar color a alimentos que carecen de color, como son los productos de confitería.

Por otro lado, la tendencia por consumir alimentos de origen natural no es reciente, la industria alimentaria se ha enfocado en aprovechar las tendencias de los

consumidores, que buscan alimentos más naturales, con menos aditivos, y mínimamente procesados (Alzamora, et al., 2016; Bearth, Cousin, & Siegrist, 2014). Debido a esto, algunas investigaciones se han enfocado en la extracción de compuestos ricos en color o pigmentos naturales a partir de alimentos de origen vegetal (Corrêa et al., 2019) o sus residuos (Salim, 2017; Sagar et al., 2018; Wadhwa & Bakshi, 2013). Estos pigmentos se pueden agrupar en compuestos fenólicos dentro de los cuales se encuentran las antocianinas, betalainas y flavonoides; los carotenoides como el  $\beta$ -caroteno, luteína, zeaxantinas, antherazantinas,  $\alpha$ -caroteno, licopeno, astaxantinas y cantaxantinas (Cipolatti et al., 2019; Naderi et al., 2018; Schreinemachers, Simmons, & Wopereis, 2018), y otro tipo de pigmentos.

Muchos pigmentos han sido asociados con un alto efecto nutraceutico para la prevención o el tratamiento contra enfermedades cronicodegenerativas como el cáncer, diabetes, problemas cardiovasculares o neurológicos (Chawla et al., 2016; Piccolella et al., 2019). A su vez, pueden actuar como antiinflamatorios y/o analgésicos, además de ser eficaces antimicrobianos (Boeing et al., 2012; He, Nowson, Lucas, & MacGregor, 2007; Kulczyński et al., 2017; Leyva-Jimenez et al., 2019; Sari et al., 2019; Zhang *et al.*, 2019). Por el contrario, el uso de colorantes sintéticos en alimentos ha sido implicado con diferentes padecimientos a la salud como alergias, hiperactividad en niños, asma, y a largo plazo generación de tumores y cáncer (Amchova et al., 2015; Feketea & Tsabouri, 2017).

Debido a las diferencias en el material vegetal y en las propiedades fisicoquímicas de los pigmentos, no existe un método o condiciones únicas para su extracción. Se requiere el uso de técnicas únicas para la extracción de los mismos, entre ellas se pueden encontrar los métodos físicos (*ultrasonido, microondas, calor*), químicos

(*solventes polares, no polares, o solventes verdes como los líquidos iónicos/solventes eutécticos*), biológicos (mediante *la adición de enzimas o fermentación* ya que pueden generar enzimas que degradan la pared celular y ayudan a la liberación de los compuestos) o la combinación de dos o más para incrementar la cantidad de pigmentos. Además, esto influye en su estabilidad y especificidad. Una vez que los pigmentos son extraídos, estos se vuelven sumamente inestables a diferentes factores ambientales como son el pH, la temperatura, la radiación, la presencia de enzimas o iones metálicos, entre otros. Lo cual limita su uso o aplicación en alimentos (Antigo et al., 2017; Bąkowska *et al.*, 2003; Torskangerpoll & Andersen, 2005). Para prevenir o evitar la degradación de los pigmentos se utiliza la encapsulación. Entre los métodos de encapsulación más comunes, se destacan los métodos químicos como la *coacervación simple o compleja, inclusión molecular, gelación iónica o ionotrópica* o los métodos físicos por ejemplo el *secado por aspersión, secado por congelación-aspersión, extrusión o lecho fluidizado* (Madene et al., 2006). También es posible la combinación de métodos para incrementar la estabilidad o asegurar la encapsulación (Hernández-Nava et al., 2020).

En especial, uno de los más utilizados es el secado por aspersión, ya que se considera una tecnología barata, muy versátil, con altos rendimientos, el tiempo de retención en el equipo es muy corto por lo cual los compuestos presentes en el extracto a encapsular no se ven perjudicados (Barbosa-Cánovas, 2005). No obstante, para una encapsulación exitosa, es necesario que el componente activo (antioxidantes, pigmentos, microorganismos, aceites, etc.) se encuentre recubierto, lo que se logra mediante la adición de agentes de recubrimiento, los cuales pueden ser naturales o sintéticos (Barbosa-Cánovas, 2005; Juliano

& Barbosa-Cánovas, 2010; Verma & Singh, 2015). Entre los más comunes se encuentran los carbohidratos, gomas de diferentes fuentes, proteínas vegetales o animales (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021). Pese a la gran variedad, los más utilizados en alimentos son goma arábiga y la maltodextrina (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021); no obstante, se busca el uso de nuevos agentes que ayuden a aumentar la estabilidad durante el almacenamiento. Por otro lado, el uso de pretratamientos antes del secado por aspersión es una práctica común. Algunos ejemplos de estos pretratamientos, son i) la concentración del extracto a encapsular, esto incrementa el contenido del compuesto activo, elimina el solvente usado para la extracción de pigmentos, y/o reduce aromas indeseables (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021; Kaimainen et al., 2015); ii) el calentamiento ayuda a la reducción de la viscosidad de la mezcla, inactiva algunas enzimas y ayuda a una mejor solubilización de los agentes encapsulantes (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021; Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015); iii) la homogenización ayuda a la incorporación de los agentes encapsulantes y propicia la combinación de sustancias inmiscibles; iv) pretratamientos biológicos, la aplicación de enzimas o el uso de la fermentación con levaduras o bacterias ácido-lácticas puede mejorar las propiedades físicas del extracto mediante la disminución de la viscosidad, a su vez la fermentación ayuda a la degradación de azúcares de bajo peso molecular (con baja temperatura de transición vítrea) que pueden fomentar la adherencia de partículas durante el secado, e incrementa la cantidad de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante que son el resultado del metabolismo de los microorganismos (Bhandari et al., 1993, 1997; Chang et al., 2020; Czyżowska et al., 2006; Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021; Wong & Tan, 2017).

## **Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**

---

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue extraer pigmentos naturales de diferentes fuentes vegetales subaprovechadas de la región sureste, evaluar su potencial antioxidante, conservarlos y estabilizarlos mediante microencapsulación utilizando el secado por aspersión, superar diferentes retos tecnológicos asociados al extracto para mejorar el secado y utilizarlos como colorantes en alimentos.

## Referencias

- Alzamora, S. M., López-Malo, A., Tapia, M. S., & Welti-Chanes, J. (2016). Minimally Processed Foods. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 767–771). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00470-0>
- Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *73*(3), 914–922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
- Antigo, J. L. D., Bergamasco, R. de C., & Madrona, G. S. (2017). Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* l.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Science and Technology*, *38*(1), 72–77. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.34316>
- Awad, N. E., Abdelkawy, M. A., Hamed, M. A., Souleman, A. M. A., Abdelrahman, E. H., & Ramadan, N. S. (2015). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Justicia spicigera* ethyl acetate fraction and characterization of its anthocyanin content. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *7*(8), 91–96.
- Bąkowska, A., Kucharska, A. Z., & Oszmiański, J. (2003). The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, *81*(3), 349–355. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00429-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00429-6)
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, *218*, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>
- Barbosa-Cánovas, G. V. (Ed.). (2005). *Food powders: Physical properties, processing, and functionality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Bearth, A., Cousin, M.-E., & Siegrist, M. (2014). The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*, *38*, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.05.008>

- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems Associated with Spray Drying of Sugar-Rich Foods. *Drying Technology*, *15*(2), 671–684. <https://doi.org/10.1080/07373939708917253>
- Bhandari, B. R., Senoussi, A., Dumoulin, E. D., & Lebert, A. (1993). Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, *11*(5), 1081–1092. <https://doi.org/10.1080/07373939308916884>
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M. J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., & Watzl, B. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, *51*(6), 637–663. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0380-y>
- Chang, L. S., Tan, Y. L., & Pui, L. P. (2020). Production of spray-dried enzyme-liquefied papaya (*Carica papaya* L.) powder. *Brazilian Journal of Food Technology*, *23*, e2019181. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18119>
- Chawla, H., Parle, M., Sharma, K., & Yadav, M. (2016). Beetroot: A Health Promoting Functional Food. *Inventi Impact: Nutraceuticals*, *1*, 8–12.
- Cipolatti, E. P., Remedi, R. D., Sá, C. dos S., Rodrigues, A. B., Gonçalves Ramos, J. M., Veiga Burkert, C. A., Furlong, E. B., & Fernandes de Medeiros Burkert, J. (2019). Use of agroindustrial byproducts as substrate for production of carotenoids with antioxidant potential by wild yeasts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *20*, 101208. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101208>
- Clydesdale, F. M. (1993). Color as a factor in food choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *33*(1), 83–101. <https://doi.org/10.1080/10408399309527614>
- Corrêa, R. C. G., Garcia, J. A. A., Correa, V. G., Vieira, T. F., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2019). Pigments and vitamins from plants as functional ingredients: Current trends and perspectives. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 90, pp. 259–303). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.003>
- Czyżowska, A., Klewicka, E., & Libudzisz, Z. (2006). The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants. *European Food Research and Technology*, *223*(1), 110–116. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0159-y>

- da Costa, J. M. G., Silva, E. K., Toledo Hijo, A. A. C., Azevedo, V. M., Malta, M. R., Ferreira Alves, J. G. L., & Borges, S. V. (2015). Microencapsulation of Swiss cheese bioaroma by spray-drying: Process optimization and characterization of particles. *Powder Technology*, *274*, 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.01.037>
- DuBOSE, C. N., Cardello, A. V., & Maller, O. (1980). Effects of colorants and flavorants on identification, perceived flavor intensity, and hedonic quality of fruit-flavored beverages and cake. *Journal of Food Science*, *45*(5), 1393–1399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb06562.x>
- Feketea, G., & Tsabouri, S. (2017). Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? *Food Chemistry*, *230*, 578–588. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.043>
- Gilbert, A. N., Fridlund, A. J., & Lucchina, L. A. (2016). The color of emotion: A metric for implicit color associations. *Food Quality and Preference*, *52*, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.04.007>
- Gilbert, A. N., Martin, R., & Kemp, S. E. (1996). Cross-Modal Correspondence between Vision and Olfaction: The Color of Smells. *The American Journal of Psychology*, *109*(3), 335. <https://doi.org/10.2307/1423010>
- Hann, D., & Stražičar, J. (2007). Influence of Particle Size Distribution, Moisture Content, and Particle Shape on the Flow Properties of Bulk Solids. *Instrumentation Science & Technology*, *35*(5), 571–584. <https://doi.org/10.1080/10739140701540453>
- He, F. J., Nowson, C. A., Lucas, M., & MacGregor, G. A. (2007). Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: Meta-analysis of cohort studies. *Journal of Human Hypertension*, *21*(9), 717–728. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1002212>
- Hernández-Nava, R., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munguía, M. T. (2020). Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. *Food Hydrocolloids*, *109*, 106077. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106077>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). Extraction, microencapsulation, color properties, and experimental design of natural pigments obtained by spray



- drying. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 769–811. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7>
- Juliano, P., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2010). Food Powders Flowability Characterization: Theory, Methods, and Applications. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 211–239. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.102308.124155>
- Kaimainen, M., Laaksonen, O., Järvenpää, E., Sandell, M., & Huopalahti, R. (2015). Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. *Food Chemistry*, 187, 398–406. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.064>
- Kemp, S. E., & Gilbert, A. N. (1997). Odor Intensity and Color Lightness Are Correlated Sensory Dimensions. *The American Journal of Psychology*, 110(1), 35. <https://doi.org/10.2307/1423699>
- Kulczyński, B., Gramza-Michałowska, A., Kobus-Cisowska, J., & Kmiecik, D. (2017). The role of carotenoids in the prevention and treatment of cardiovascular disease – Current state of knowledge. *Journal of Functional Foods*, 38, 45–65. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.001>
- Leyva-Jimenez, F. J., Lozano-Sanchez, J., Borrás-Linares, I., Cadiz-Gurrea, M. de la L., & Mahmoodi-Khaledi, E. (2019). Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria. *LWT*, 101, 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.015>
- Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E. J., & Wang, S. (2015). Kinetics of Food Quality Changes During Thermal Processing: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 343–358. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1398-3>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Md Salim, N. S., Singh, A., & Raghavan, V. (2017). Potential Utilization of Fruit and Vegetable Wastes for Food through Drying or Extraction Techniques. *Novel Techniques in Nutrition & Food Science*, 1(2). <https://doi.org/10.31031/NTNF.2017.01.000506>

- Naderi, A., Rezaei, S., Moussa, A., Levers, K., & Earnest, C. P. (2018). Fruit for sport. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.013>
- Piccolella, S., Crescente, G., Candela, L., & Pacifico, S. (2019). Nutraceutical polyphenols: New analytical challenges and opportunities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 175, 112774. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.07.022>
- Porcherot, C., Delplanque, S., Gaudreau, N., & Cayeux, I. (2013). Seeing, smelling, feeling! Is there an influence of color on subjective affective responses to perfumed fabric softeners? *Food Quality and Preference*, 27(2), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.06.011>
- Ribeiro, J. S., & Veloso, C. M. (2021). Microencapsulation of natural dyes with biopolymers for application in food: A review. *Food Hydrocolloids*, 112, 106374. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106374>
- Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., & Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization: Fruit and vegetable waste.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 512–531. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>
- Sarı, A., Şahin, H., Özsoy, N., & Özbek Çelik, B. (2019). Phenolic compounds and in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities of *Scorzonera hieraciifolia* Hayek roots. *South African Journal of Botany*, 125, 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.009>
- Schreinemachers, P., Simmons, E. B., & Wopereis, M. C. S. (2018). Tapping the economic and nutritional power of vegetables. *Global Food Security*, 16, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.09.005>
- Scotter, M. J. (2011). Emerging and persistent issues with artificial food colours: Natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3(1), 28–39. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2010.00087.x>
- Spence, C., Levitan, C. A., Shankar, M. U., & Zampini, M. (2010). Does Food Color Influence Taste and Flavor Perception in Humans? *Chemosensory Perception*, 3(1), 68–84. <https://doi.org/10.1007/s12078-010-9067-z>

- Sun-Waterhouse, D., & Waterhouse, G. I. N. (2015). Spray-Drying of Green or Gold Kiwifruit Juice–Milk Mixtures; Novel Formulations and Processes to Retain Natural Fruit Colour and Antioxidants. *Food and Bioprocess Technology*, 8(1), 191–207. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1397-4>
- Tena, N., Martín, J., & Asuero, A. G. (2020). State of the Art of Anthocyanins: Antioxidant Activity, Sources, Bioavailability, and Therapeutic Effect in Human Health. *Antioxidants*, 9(5), 451. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>
- Torskangerpoll, K., & Andersen, Ø. M. (2005). Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry*, 89(3), 427–440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.002>
- Verma, A., & Singh, S. V. (2015). Spray Drying of Fruit and Vegetable Juices—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 701–719. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.672939>
- Wadhwa, M., & Bakshi, M. P. S. (2013). *Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products*. FAO.
- Wong, C. W., & Tan, H. H. (2017). Production of spray-dried honey jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder from enzymatic liquefied puree. *Journal of Food Science and Technology*, 54(2), 564–571. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2501-3>
- Zhang, Q., Gonzalez de Mejia, E., Luna-Vital, D., Tao, T., Chandrasekaran, S., Chatham, L., Juvik, J., Singh, V., & Kumar, D. (2019). Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. *Food Chemistry*, 289, 739–750. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.116>

## 2. Justificación general

El uso de colorantes artificiales tiene serias repercusiones en la salud de los consumidores. Además, las nuevas tendencias alimenticias llevan a los productores de alimentos a hacer uso de materia prima que además de naturales, sin conservadores, ayuden o aporten un beneficio a la salud. Por lo que, el uso de compuestos provenientes de fuentes naturales como son las frutas o las plantas (materia vegetal en general) ayudaría a lidiar con ambas problemáticas.

Aunado a esto, el consumo de muchos frutos autóctonos o “exóticos” es muy bajo sobre todo por las nuevas generaciones. Muchos de estos frutos terminan como alimento para ganado o simplemente son dejados a la intemperie lo que puede generar una fuente de contaminación durante su descomposición, ya que de lo contrario su almacenamiento conllevaría a un costo.

El uso y aprovechamiento de estos frutos podría incrementar el valor de los cultivos, darle un valor agregado a los alimentos que sean adicionados con estos pigmentos incrementando el contenido de compuestos bioactivos. Sin embargo, para hacerlo posible, es

## Justificación general

---

necesario el uso de diferentes tecnologías, desde la extracción de los pigmentos hasta la conservación de estos para facilitar su incorporación, almacenamiento, estabilidad, entre otros. Por lo que, el uso del secado por aspersión, funcionaria como una tecnología económica y viable para su obtención. Además, hacer uso de pretratamientos durante o después de la extracción para contrarrestar las posibles limitantes tecnológicas.

## 3. Objetivo general

Extraer pigmentos naturales de diferentes fuentes vegetales subaprovechados de la región sureste, evaluar su potencial antioxidante, conservarlos y estabilizarlos mediante microencapsulación utilizando el secado por aspersión, superar diferentes retos tecnológicos asociados al extracto para mejorar el secado y utilizarlos como colorantes en alimentos.

### 3.1 Objetivos específicos por capítulo

#### **Capítulo 1**

Recopilar y resumir diferentes trabajos de los últimos años acerca de la microencapsulación de pigmentos naturales mediante secado por aspersión. Mostrar los procedimientos utilizados actualmente para la extracción y estabilización de pigmentos, así como el uso de diferentes agentes encapsulantes y las aplicaciones de los pigmentos en matrices alimenticias.

#### **Capítulo 2**

Evaluar el efecto de la combinación de tres agentes encapsulantes (goma de mesquite, goma arábiga, maltodextrina) para obtener pigmentos microencapsulados mediante secado por aspersión, de jugo fermentado de pitaya.

### **Capítulo 3**

Evaluar el tiempo de viabilidad de pigmentos de *J. spicigera* cuando estos son sometidos a diferentes valores de pH y temperatura usando cinéticas de primer orden y modelos de Tiempo de Falla

### **Capítulo 4**

Obtener encapsulados mediante secado por aspersión de leche fermentada o no fermentada, entera o descremada, que contenga *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG y pigmentos de *Justicia spicigera*.

### **Capítulo 5**

Presentar el conocimiento actual acerca del fruto, su composición química, compuestos funcionales y aromáticos y sus usos, así como demostrar que tiene el potencial para ser usado como ingrediente en productos procesados.

### **Capítulo 6**

Obtener pigmentos de la pulpa de zapote negro usando la fermentación como método para incrementar la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales, así como su efecto en el color. Encapsular los pigmentos mediante secado por aspersión y adicionarlos a una matriz alimenticia y evaluar el color y su aceptabilidad sensorial.

## 4. Artículos

En la siguiente sección se presentan los resultados en forma de capítulos individuales del trabajo experimental realizado. Cada capítulo utilizó una matriz diferente para la obtención de un colorante natural y así lograr su encapsulación.



## Capítulo I

# **Extracción, Microencapsulación, Propiedades de Color, y Diseños Experimentales usados para la Obtención de Pigmentos mediante Secado por Aspersión**

Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán

### **Resumen**

Los carotenoides, clorofilas, betalaínas y antocianinas provenientes de fuentes naturales han ganado popularidad por sus diferentes beneficios a la salud de los consumidores y sus múltiples usos en la industria alimentaria y otras industrias. En específico, en la industria alimentaria se usan o se podría usar estos pigmentos como colorantes alimentarios; sin embargo, el uso de éstos podría verse afectado por factores ambientales que afectan su estabilidad. La microencapsulación por secado por aspersión es una técnica que ayuda a conservar los pigmentos al incorporar un agente de recubrimiento y al mismo tiempo facilitar su incorporación. Esta revisión describe los diferentes pasos (extracción, pretratamientos del extracto, homogenización del agente encapsulante, secado por aspersión, estabilidad del polvo obtenido) mediante los cuales pueden obtenerse pigmentos microencapsulados, de diferentes fuentes naturales). Además, se analizan métodos matemáticos para explorar como los diferentes parámetros afectan el secado y las respuestas asociadas a este. Se discute el uso de algunos agentes encapsulantes comunes y poco comunes. De igual forma se mencionan

trabajos donde obtienen pigmentos usando el secado por aspersión. Finalmente, se incluye una sección donde se mencionan diferentes usos de los pigmentos microencapsulados en los últimos años.

## **Palabras clave**

Secado por aspersión, Microencapsulación, Pigmentos naturales, Etapas del secado, Estabilidad de pigmentos, Color

## **Introducción**

El color en los alimentos está relacionado con la expectativa del consumidor (apariencia, sabor y aroma esperados) e intensidad de sabores o cualquier otro atributo como la dulzura (Clydesdale, 1993; DuBOSE et al., 1980; Gilbert et al., 1996; Kemp & Gilbert, 1997; Porcherot et al., 2013; Spence et al., 2010), la acidez, el salado, entre otros muchos atributos sensoriales. El color es una característica física de aceptabilidad y está involucrado en la sensación de placer y en la evocación de emociones o sentimientos (Clydesdale, 1993; Gilbert et al., 2016; Porcherot et al., 2013). La intensidad o saturación del color actúa como un factor de calidad (DuBOSE et al., 1980). Sin embargo, la mayoría de los procesos afectan al color en alimentos en algún paso del procesamiento (Ling et al., 2015). Por lo que, en muchos casos, es necesaria la adición de colorantes alimentarios para estandarizar, recuperar, mejorar, o incrementar el color (Gilbert et al., 2016; Scotter, 2011). Actualmente, las dos clasificaciones reconocidas para pigmentos son los colorantes sintéticos, los cuales necesitan

certificación que los reconozca como “seguro para humanos”, y los pigmentos naturales, exentos de certificación de acuerdo con las restricciones de cada país (Coultate & Blackburn, 2018).

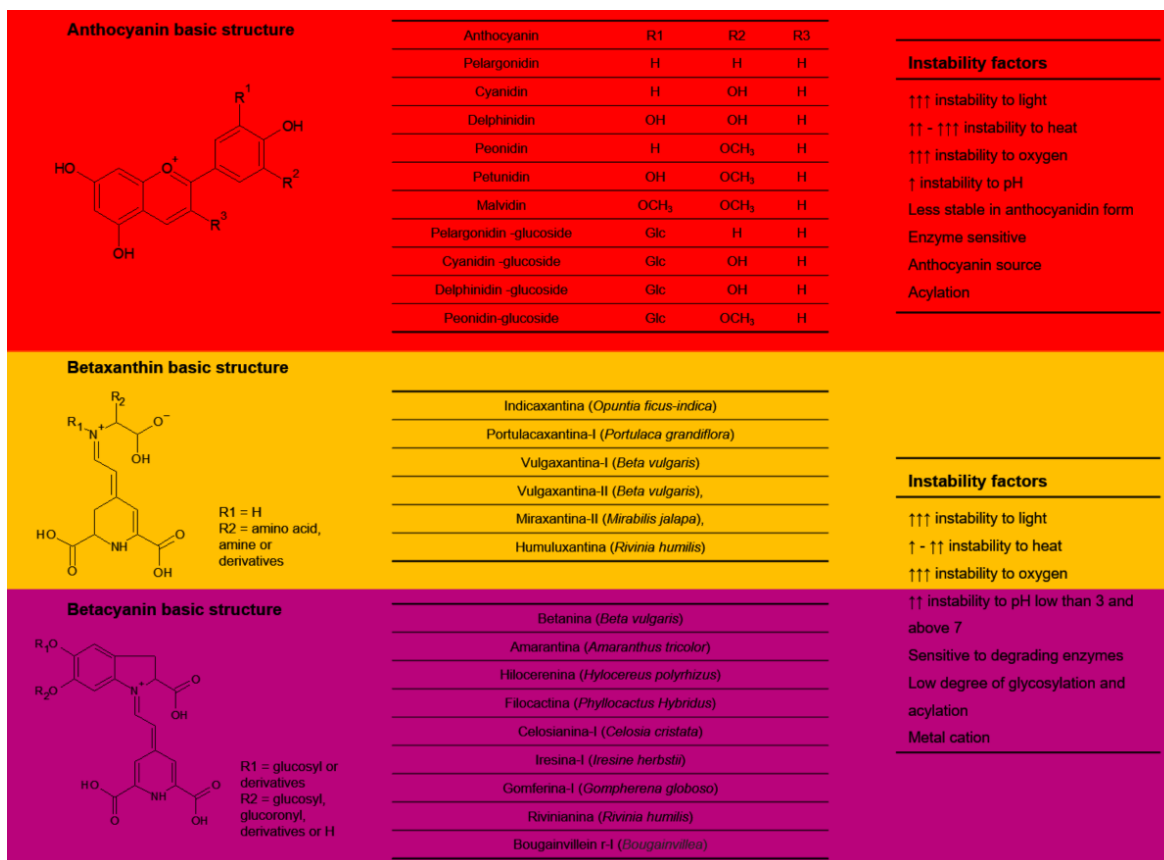
Esta revisión resume diferentes trabajos de los últimos años acerca de la microencapsulación de pigmentos naturales mediante secado por aspersion. Muestra los procedimientos utilizados actualmente para la extracción y estabilización de pigmentos, así como el uso de diferentes agentes encapsulantes y las aplicaciones de los pigmentos en matrices alimenticias.

### **Pigmentos naturales**

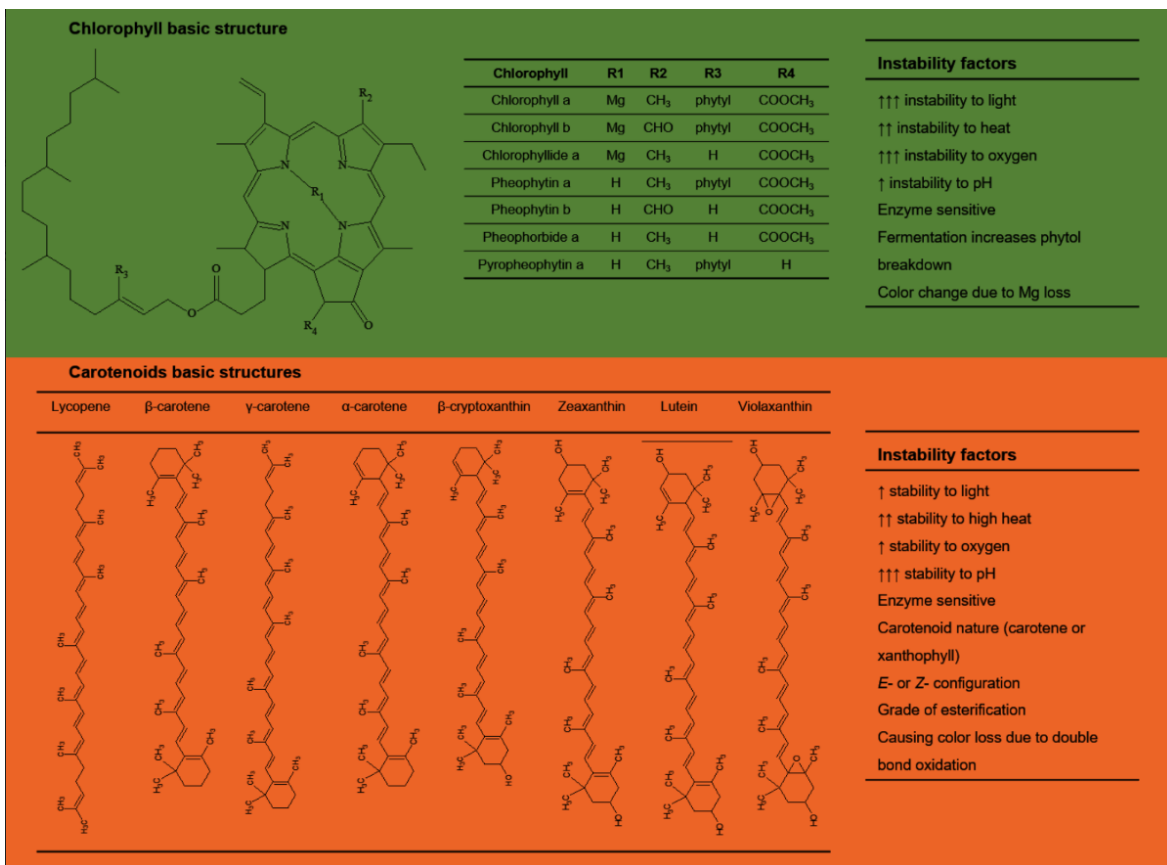
Los pigmentos naturales más comunes son las clorofilas, carotenoides, flavonoides, antocianinas y betalaínas (Miguel, 2018). En general, los pigmentos como las antocianinas y betalaínas son solubles en agua. Por el contrario, los carotenoides y las clorofilas son solubles en grasas. Dependiendo de las características del pigmento, cuando son usados como un extracto de frutas o vegetales para colorear alimentos, son solubles en agua; no obstante, cuando se apliquen en alimentos el aspecto en la matriz será turbio como el obtenido de zanahoria. La estructura básica de los pigmentos más comunes se muestra en la Figura 1. Los pigmentos naturales, además de colorear, pueden conferir diferentes propiedades debido a su efecto nutracéutico en la prevención y tratamiento de enfermedades (Boeing et al., 2012; He, Nowson, Lucas, & MacGregor, 2007; Kulczyński et al., 2017; Leyva-Jimenez et al., 2019; Sari et al., 2019; Zhang et al., 2019). Una desventaja del uso de pigmentos naturales es su

## Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante

alta inestabilidad a condiciones ambientales. El uso de métodos que permitan la conservación de estos pigmentos ha sido ampliamente estudiado; uno de los más usados es el secado por aspersión (Bakry et al., 2016; Gharsallaoui et al., 2007; Santos et al., 2018).



**Figura 1.** Características y factores de estabilidad de algunos pigmentos (antocianinas, betalinas clorofilas, y carotenoides). La inestabilidad se representó de alta a baja con una a tres flechas hacia arriba.



**Figura 1.** Características y factores de estabilidad de algunos pigmentos (antocianinas, betalinas clorofilas, y carotenoides). La inestabilidad se representó de alta a baja con una a tres flechas hacia arriba (*continuación*).

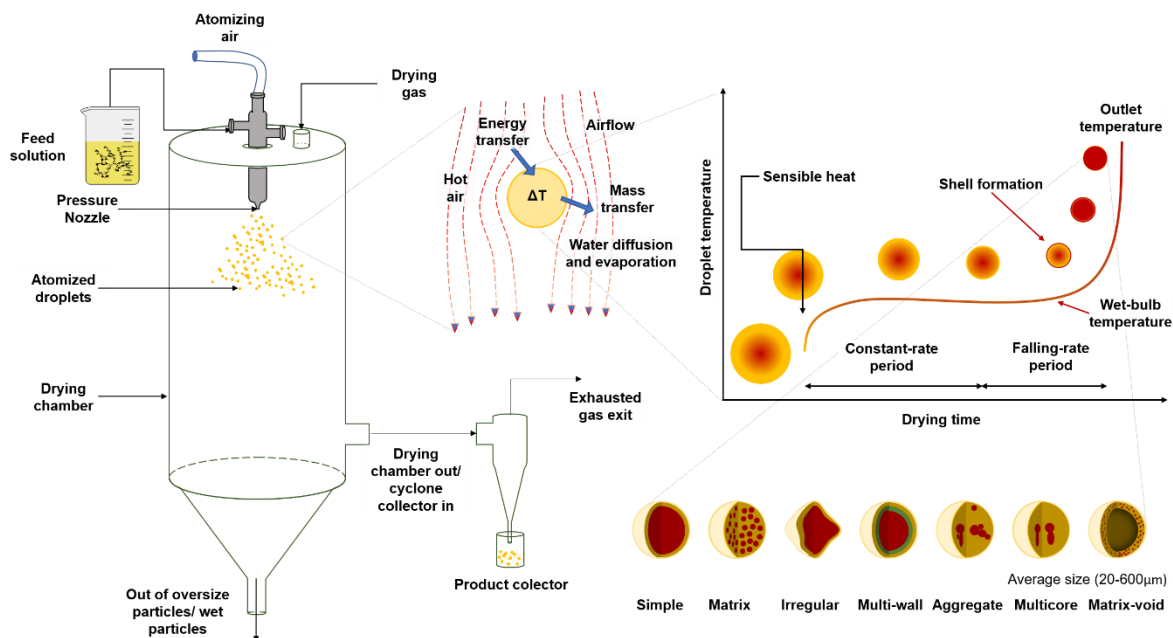
## Secado por aspersión

Brevemente, el secado por aspersión (Figura 2) consiste en la elaboración de una emulsión utilizando un agente estabilizante, que a su vez actuará como agente de recubrimiento. Su incorporación al extracto rico en pigmentos debe ser homogenizado para su correcto paso por el atomizador del equipo de secado. Posteriormente, se forman pequeñas gotitas que facilita la evaporación del agua. Finalmente, el polvo se recupera en el colector (Figura 2)

(Bakry et al., 2016; Gharsallaoui et al., 2007; Santana et al., 2016; Santos et al., 2018; Steiner et al., 2018). El secado por aspersión permite la obtención de un polvo cuyas características ayudan a la incorporación a diferentes productos alimentarios, lo que dependerá de factores tales como el tipo de solución, las condiciones de secado y el material encapsulante, entre otros (de Boer et al., 2019; Janiszewska-Turak, 2017; Özkan & Ersus Bilek, 2014).

Durante el paso por el secador ocurre la atomización; corresponde a la alimentación de la mezcla del compuesto activo-agente encapsulante, usualmente se lleva a cabo por una bomba peristáltica. El líquido se hace pasar a una boquilla de atomización. La boquilla de atomización más común es la de dos fluidos (*two-fluid*) o la boquilla neumática (*pneumatic nozzle*), pero se pueden encontrar diferentes tipos como la rotatoria (*centrifugal* o *rotary atomizer*), hidráulica o presurizada (*hydraulic* o *pressure nozzle*), y ultrasónica (*ultrasonic nozzle*). La selección del tipo de boquilla dependerá de las características de la muestra y del polvo que se desea obtener. La boquilla *two-fluid* consiste en una alimentación del líquido y una de gas comprimido, usualmente aire. Al chocar el líquido con el aire a alta velocidad, el líquido se desintegra en pequeñas gotas. Una de las desventajas de este tipo de boquillas es la baja uniformidad del tamaño de las gotas. En el secado de la gota, las partículas atomizadas entran en contacto con el aire caliente (corriente continua, contracorriente o ambas), donde comienza el secado. Durante el secado ocurren dos fenómenos, la transferencia de masa y de calor usualmente por convección del aire caliente a la gota atomizada. Las gotas adoptan una forma esférica alcanzando rápidamente el equilibrio térmico determinado por la velocidad de evaporación. La evaporación del solvente (usualmente agua) ocurre por la migración de la humedad desde el interior a temperatura

constante y presión de vapor constante en la superficie de la partícula. Una vez alcanzados valores críticos de humedad, una especie de corteza (*shell*) se forma sobre la superficie; por lo tanto, la evaporación ahora depende de la velocidad de difusión de la humedad a través de la corteza. El secado finaliza cuando la temperatura de la partícula y del aire son iguales.



**Figura 2.** Resumen del proceso de secado por aspersión (adaptado de Bakry et al., 2016; Huang, 2011; Santos et al., 2018)

## Métodos de extracción para pigmentos naturales

El primer paso del proceso de encapsulación de pigmentos naturales es la extracción. Se han reportado distintos métodos de extracción de pigmentos; el uso de cada uno de ellos impactara en la cantidad y estabilidad de los mismos (Tabla 1). Los diferentes métodos pueden clasificarse en métodos físicos, químicos o biológicos que a su vez se dividen en

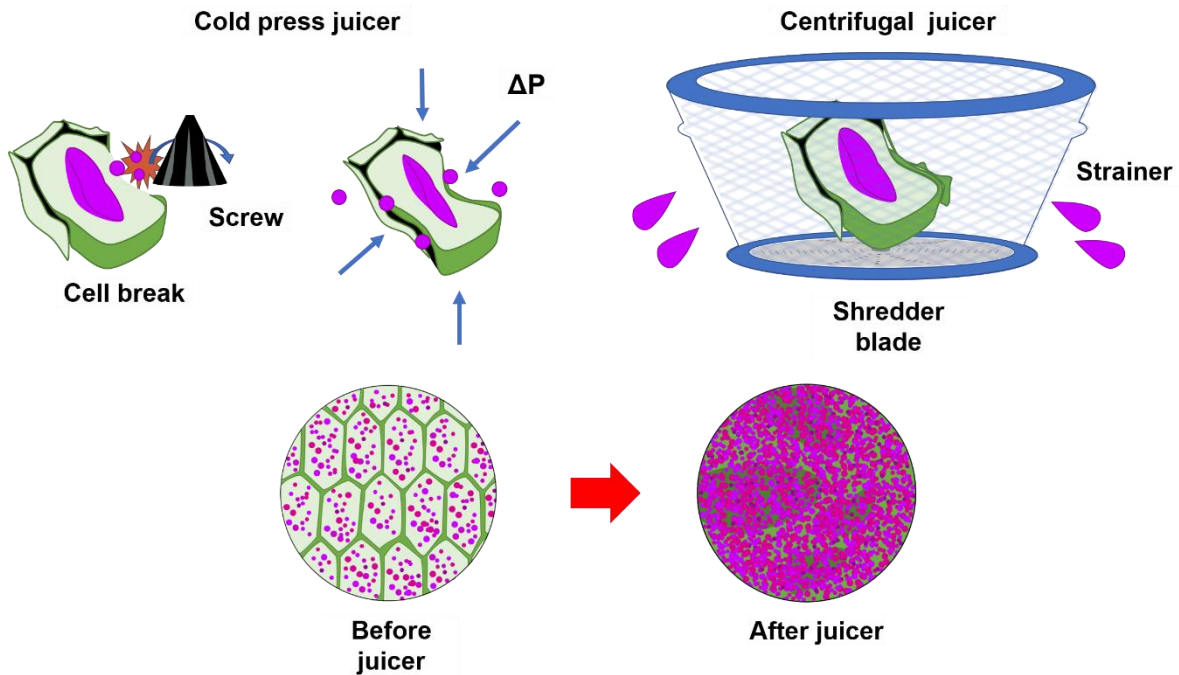
métodos convencionales y no convencionales (o tecnologías verdes) (Ngamwonglumlert et al., 2017; Soquetta et al., 2018).

### ***Extracción por métodos físicos***

El método más sencillo para la obtención de extractos ricos en pigmentos consiste en la aplicación de una fuerza: presión (“*screw*”), centrifugación (“cuchilla metálica de giro rápido o cuchilla trituradora; *fast spinning metal blade* o *shredder blade*”) o cizallamiento (“licuadora, homogeneización de alta velocidad, cizallamiento de alta velocidad”), causando una disrupción celular liberando el compuesto (Figura 3). Este método ha sido usado principalmente para la obtención de betalaínas (Tabla 1); sin embargo, también se ha utilizado para la obtención de antocianinas, carotenoides y clorofilas. Además de la simplicidad del método, éste tiene la ventaja de realizarse en tiempos cortos evitando la degradación o isomerización de los pigmentos (Hagerthey et al., 2006). Por otro lado, la aplicación de alguna de las fuerzas ya mencionadas (presión, centrifugación o cizallamiento) puede incrementar la temperatura afectando negativamente al extracto (Khaksar et al., 2019); lo cual podría solucionarse mediante “la extracción por prensado en frío” (Khaksar et al., 2019). Algunos ejemplos de extracción mecánica o por métodos físicos son (a) antocianinas mediante el prensado de arilos de granada (*Punica granatum*), bayas de blueberry (*Vaccinium corymbosum*) (Tatar Turan et al., 2016), de cereza acida (*Prunus cerasus*) (Sarabandi et al., 2017), de juçara (*Euterpe edulis*) (Pereira et al., 2020) y de tamarillo (*Solanum betaceum*) (Ramakrishnan et al., 2018); (b) betalaínas de betabel (*Beta vulgaris*) (Antigo et al., , 2020; Antigo et al., 2017; Bazarria & Kumar; 2016, Bazarria & Kumar 2017; Čakarević et al., 2020; Carmo et al., 2019; Hernández-Martínez et al., 2017), de cactáceas como la pitaya



(*Stenocereus griseus*, *Stenocereus queretaroensis*) (Delia et al., 2019; García-Lucas et al., 2017), la tuna (*Opuntia ficus-indica*) (Otálora et al., 2015; Otálora et al., 2018), el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) (Hernández-Martínez et al., 2017) y la jiotilla (*Escontria chiotilla*) (Delia et al., 2019); (c) carotenoides de pera (*Pyrus pyrifolia*) (Lee et al., 2017), papaya (*Carica papaya*) (Gomes et al., 2018), golden kiwi (*Actinidia chinensis*) (Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015), mango (*Mangifera indica*) (Zotarelli et al., 2017), yaca (*Artocarpus heterophyllus*) (Wong & Tan, 2017), jitomate (*Solanum lycopersicum*) (Sidhu et al., 2019), y (d) clorofilas de hojas de moringa (*Moringa oleífera*) (Looi et al., 2019) y kiwi verde (*Actinidia deliciosa*) (Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015).



**Figura 3.** Extracción de compuestos por métodos físicos (adaptado de Kuvings ©, 2020).

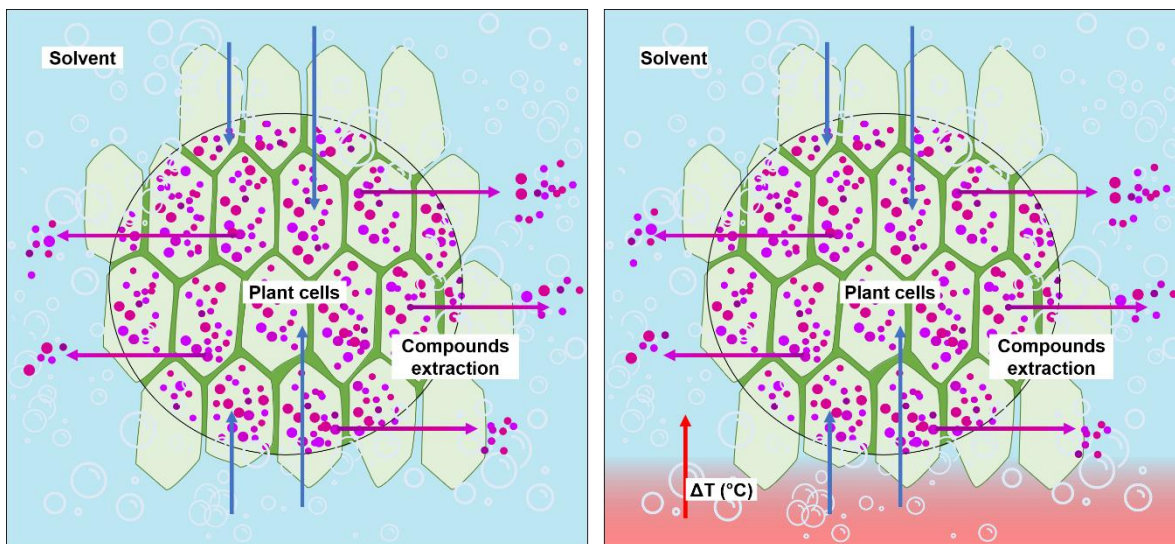
### ***Extracción por métodos químicos***

Los métodos convencionales para la extracción de pigmentos pueden ser por el método Soxhlet, maceración o hidrodestilación (Veggi et al., 2012). Los métodos son fáciles de realizar, baratos y relativamente rápidos. El proceso de maceración es el más utilizado para la extracción de pigmentos hidrosolubles como las betalainas y antocianinas o liposolubles como carotenoides y clorofilas (Tabla 1). Brevemente, el método consiste en el reposo del material vegetal en algún disolvente, con o sin agitación (la agitación incrementa la difusión y remueve el solvente saturado de la superficie de la muestra), a temperatura ambiente o temperatura elevada (esto puede agilizar el proceso, disminuyendo el tiempo de extracción, pero se corre el riesgo de destrucción del pigmento) (Khonkarn et al., 2010; Ngamwonglumlert et al., 2017; Soquetta et al., 2018). El método se rige bajo la premisa de la formación de enlaces entre el disolvente y el compuesto de interés, el cual será extraído de la materia orgánica. El disolvente incrementará la solubilidad del soluto; no obstante, en ocasiones es necesario repetir el proceso de maceración para incrementar el rendimiento (Figura 4).

La selección del disolvente para la extracción es de gran importancia ya que este influirá en la estabilidad de los pigmentos y en la toxicidad del producto final. Basados en la bibliografía revisada en este trabajo, los solventes más utilizados son agua, etanol (Mäki-Arvela et al., 2014), acetona y buffer de fosfatos (para la extracción de betalainas) (Otálora et al., 2018). El material vegetal puede ser sometidos a pretratamientos tales como la reducción de tamaño o molido (fresco o secado por calor o liofilización), con el fin de

incrementar el área superficial, aumentando la permeabilidad del material y ayudando a la extracción de la mezcla disolvente-material (Soquetta et al., 2018).

Algunas ventajas de este método de extracción son su sencillez, poca inversión y la posibilidad de hacerlo a bajas temperaturas. Sin embargo, presenta algunas desventajas: largo tiempo de extracción (en algunos casos), gran cantidad de disolvente, requiere del filtrado del extracto, múltiples extracciones y técnicas para la remoción del disolvente como la evaporación bajo presión reducida. Algunos investigadores reportan la obtención de antocianinas mediante la maceración con etanol: calices de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) (Ochoa-Velasco et al., 2017), cáscara de jengibre de jardín (xkijit) (*Renalmia alpinia*) (Jimenez-Gonzalez et al., 2018), bagazo de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) and Bordeaux (*Vitis labrusca*) (Rubio et al., 2020); en pulpa de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) para obtener un extracto rico en betalaínas (Vargas-Campos et al., 2018) y para extraer clorofilas de espinaca (*Spinacia oleracea*) (Femat-Castañeda et al., 2019). Es común que para la extracción de antocianinas se acidifique el disolvente para ayudar a la estabilidad de los pigmentos. Se ha utilizado etanol acidificado para obtener extractos de azafrán (*Crocus sativus* L.) (Ahmad et al., 2018) o pureé de barberry (*Berberis vulgaris*) (Akhavan Mahdavi et al., 2016). Por otro lado, se ha usado solución acuosa de ácido cítrico para obtener extractos de col morada (*Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. rubra) (Bernstein, & Noreña, 2015), buffer de fosfatos con pH ajustado en tuna (*Opuntia megacantha*) (Otálora et al., 2018). Disolventes no polares como el hexano es comúnmente usado para la extracción de carotenoides de semillas de achiote (*Bixa orellana* L.) (Tupuna et al., 2018).



**Figura 4.** Extracción de compuestos por métodos químicos o solventes (Soto-Sierra, Wilken, & Dixon, 2020).

### *Métodos no convencionales*

Dentro de los métodos no convencionales se encuentran los fluidos supercríticos. Con este método se evita el uso de disolventes y los extractos ricos en pigmentos son más seguros. Para llevar a cabo la extracción con fluidos supercríticos se usan  $CO_2$  o propano. A estos gases se les lleva a sus condiciones críticas de presión y temperatura, en las cuales actúan como fluidos con alta difusividad, baja viscosidad y alta capacidad de solvatación. Estas propiedades ayudan a penetrar la matriz, mejorando la extracción (Macias-Sanchez et al., 2009; Ngamwonglumlert et al., 2017). El uso de fluidos supercríticos funciona bien para la extracción de compuestos de baja polaridad tales como los carotenoides o clorofilas, pero no para la extracción de antocianinas o betalaínas, por su alta polaridad (Ngamwonglumlert et al., 2017). Para la extracción de antocianinas y betalaínas, es necesaria la adición de modificadores como etanol, acetona o agua (Soquetta et al., 2018). En la extracción

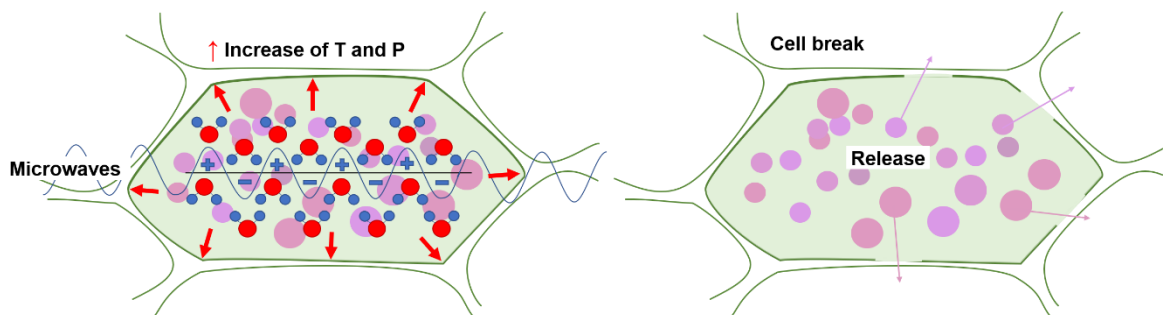
supercrítica, al no usarse disolventes (que podrían ser tóxicos), el extracto obtenido es seguro para su consumo y al trabajar bajo temperaturas reducidas, los pigmentos sensibles a la temperatura se ven menos afectados. Sin embargo, el costo de operación y del equipo, así como de los gases es elevado (Ngamwonglumlert et al., 2017).

Otra técnica de homogenización es la homogenización a altas presiones/microfluidización. Consiste en la reducción de tamaño de las partículas dispersadas mediante el paso de una mezcla a una gran velocidad con ayuda de una bomba a través de un espacio reducido (válvula de disrupción) durante tiempos muy cortos, menores a un segundo (Berk, 2009; Levy et al., 2016). La homogenización se puede llevar a cabo como un flujo continuo (Levy et al., 2020) y ocurre dentro de la válvula; es necesario alcanzar presiones entre 20 a 70 MPa para vencer la fricción dentro de la válvula (Levy et al., 2020; Patrignani & Lanciotti, 2016). Se presentan tres mecanismos que ayudan a la reducción de tamaño: cizallamiento, cavitación y turbulencia. En especial la cavitación se genera por la reducción en la presión por debajo de la presión de vapor de agua. Esto genera evaporación formando pequeñas burbujas que al expandirse y colapsar producen la cavitación que ayuda la reducción del tamaño de partículas (Levy et al., 2020). No obstante, el uso de esta técnica puede incrementar la temperatura afectando a los componentes en ella (Patrignani & Lanciotti, 2016).

### *Extracción con métodos asistidos*

Basados en los trabajos analizados en esta revisión (Tabla 1), las microondas y el ultrasonido son las tecnologías más usadas para asistir en la extracción de pigmentos, previo a la encapsulación.

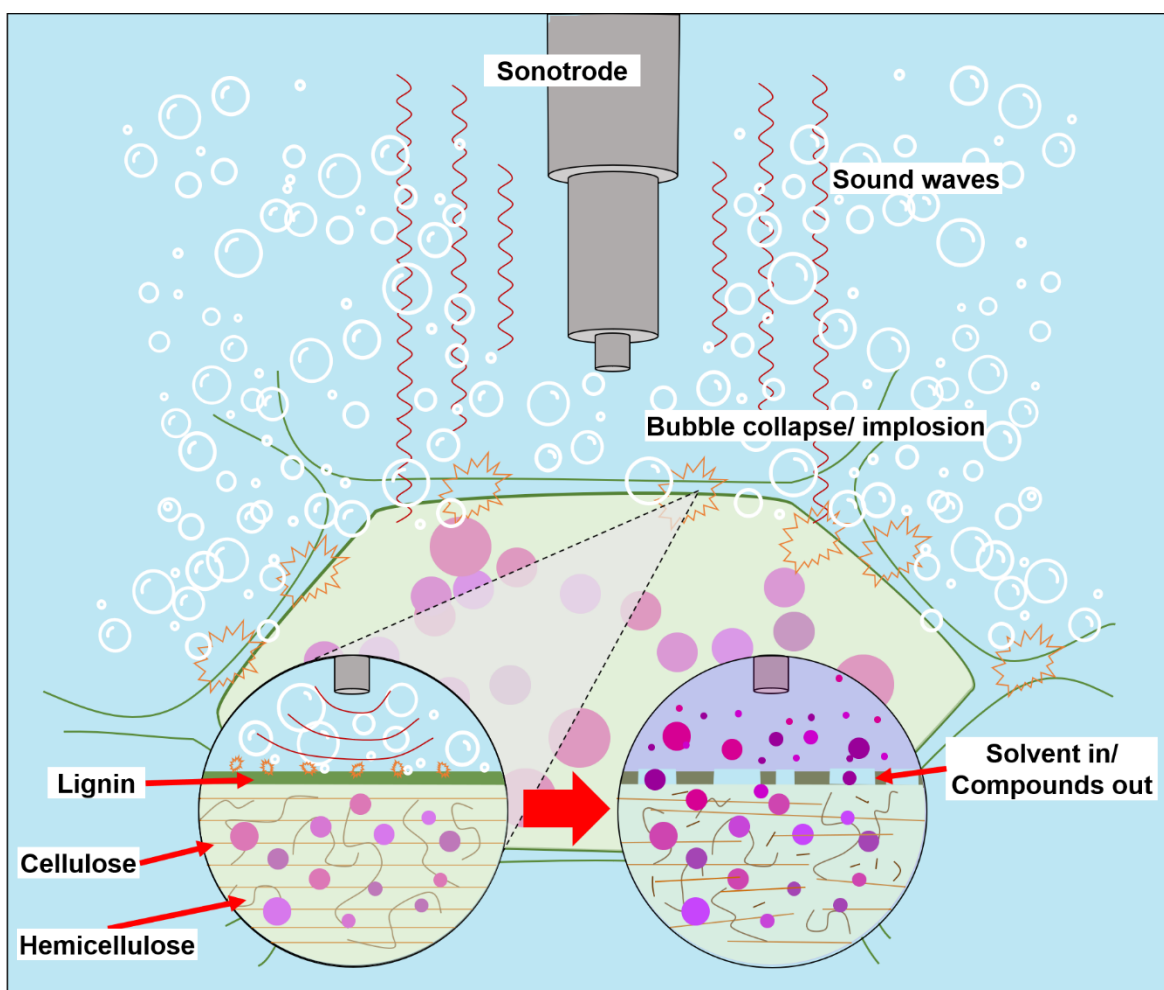
Las microondas mejoran la extracción de pigmentos tanto hidro- como liposolubles. Consiste en dos campos electromagnéticos oscilatorios que ayudan a la penetración del disolvente dentro de las células (Soquetta et al., 2018). Al mismo tiempo, las ondas excitan a las moléculas de agua actuando como una fuente de calentamiento no directo, acelerando la transferencia de energía y reduciendo el gradiente térmico (Soquetta et al., 2018). Debido al rápido calentamiento, la estructura celular puede romperse y el compuesto migrar del interior de la célula al disolvente (Figura 5) (Dahmoune et al., 2014; Zou, Wu, Li, Jia, & Song, 2013).



**Figura 5.** Extracción de compuestos por método asistido por microondas (adaptado de Li, Fabiano-Tixier, Vian, & Chemat, 2013).

El ultrasonido se basa en la cavitación (generación, crecimiento y colapso de burbujas). Cuando las burbujas implosionan se eleva la presión y la temperatura “local” hasta

en 5000K, ocasionando la transferencia de energía y masa al mismo tiempo, provocando una disrupción de la pared celular y liberando los compuestos (Figura 6) (Ngamwonglumlert et al., 2017; Singh, Ganesapillai, & Gnanasundaram, 2017; Soquetta et al., 2018). Puede aplicarse a pigmentos hidro- o lipo-solubles. El uso de ultrasonido disminuye los tiempos de extracción, la cantidad de disolvente y mejora el rendimiento (Jaeschke et al., 2017).



**Figura 6.** Extracción de compuestos por método asistido por ultrasonidos (adaptado de Peredo Pozos et al., 2020)

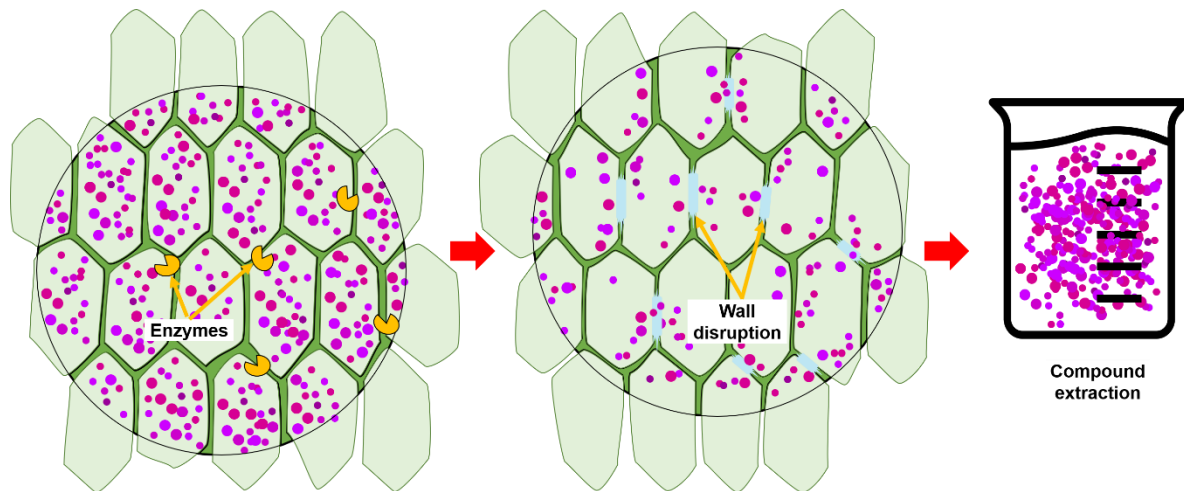
Existen otros métodos que pueden promover la transferencia de masa: por despresurización rápida, electroporación del material vegetal o cambios en los enlaces químicos. CO<sub>2</sub> aplicado de manera supercrítica (Uquiche et al., 2016), los campos eléctricos pulsados (electroporación) (Ngamwonglumlert et al., 2017; Soquetta et al., 2018), las altas presiones hidrostáticas y las descargas eléctricas de alta intensidad (cambios en los enlaces) (Garavand, Rahae, Vahedikia, & Jafari, 2019; Soquetta et al., 2018).

Sin embargo, el método más común para la extracción de pigmentos es la maceración asistida por ultrasonido. Gagneten et al., (2019) analizaron el efecto del ultrasonido en la extracción de pigmentos de *black currant* (*Ribes nigrum*), *raspberry* (*Rubus idaeus*) y *elderberry* (*Sambucus nigra*) para su posterior encapsulación. Ellos observaron, que únicamente eran necesarios dos ciclos de ultrasonido para frambuesa, tres ciclos para *blackcurrant* (10 min a 30kHz/100% amplitud) y tres ciclos de 5 min a las mismas condiciones para *elderberry* para extraer la mayor cantidad de compuestos. Otros trabajos se han enfocado en la extracción de pigmentos de diferentes partes de plantas: granos de maíz azul (*Zea mays* L.) con etanol-ultrasonido (Ruiz Canizales et al., 2019), residuos de Rosa rugosa con etanol acidificado-ultrasonido (Yu & Lv, 2019), *chokeberry* (*Aronia melanocarpa*) con acetona-ultrasonido (Pieczykolan & Kurek, 2019), y *elderberry* (*Sambucus nigra*) con acetona-ultrasonido (Sobieralska & Kurek, 2019). También se ha usado para la obtención de flexirrubina de *Chryseobacterium artocarpi* (bacteria) con acetona-ultrasonido (Venil et al., 2016). Otros trabajos reportan el uso de microondas para la obtención de betalainas de brácteas de buganvilia (*Bougainvillea glabra*), usando agua como disolvente (Kuhn, Azevedo, & Noreña, 2020).



### ***Extracción por métodos biológicos no convencionales***

Se ha observado que la aplicación de enzimas como pretratamiento puede ayudar a la extracción de compuestos químicos (Arévalo-Villena et al., 2011). Las enzimas pueden romper compuestos que forman la pared celular (pectina, celulosa, hemicelulosa) ayudando a liberar los pigmentos (Figura 7) (Fernández-González et al., 2004; Jayani, Saxena, & Gupta, 2005). Por otro lado, la fermentación en estado líquido o en estado sólido también pueden ayudar a la extracción de pigmentos. Durante la fermentación se producen diferentes enzimas para el desarrollo y sobrevivencia de los microorganismos (Patidar et al., 2018). Se ha utilizado una combinación de enzimas (Pectimex Yltra SP-L y Cellubix) como pretratamiento de bagazo de *blueberry* (*Vaccinium* var. Elliot) y posterior maceración con una solución de ácido cítrico para la obtención de pigmentos (Waterhouse, Sun-Waterhouse et al., 2017). Los autores mencionan que: a) el tratamiento enzimático ayudó a la extracción de antocianinas, sin afectar las características físicas del polvo obtenido, b) el tratamiento enzimático dejó expuestos los compuestos extraídos a la degradación térmica, posiblemente debido a la hidrólisis de compuestos como la pectina que puede ayudar en la encapsulación, c) no mejoró la estabilidad de los polvos durante el almacenamiento; y d) se incrementaron los costos y tiempo de obtención de los compuestos debido al paso extra y el uso enzimas. Otro factor importante es la necesidad de inactivar las enzimas, ya que algunos pigmentos presentan cierta inestabilidad en su presencia.



**Figura 7.** Extracción de compuestos por el método de tratamiento enzimático (adaptado de Krakowska-Sieprawska et al., 2020)

## **Pretratamientos antes del secado por aspersión**

Los pasos básicos antes del secado por aspersión consisten en la extracción de los compuestos de interés del material vegetal; posteriormente un filtración y concentración; sin embargo, en algunos casos existen otros pasos previos para la obtención de polvos mediante secado por aspersión.

### ***Concentración***

La concentración del extracto es necesaria después de la extracción de compuestos por maceración simple o maceración asistida con alguna de otra tecnología como ultrasonido o microondas.

**Evaporador rotatorio.** El método más común para la concentración de compuestos es mediante la aplicación de evaporación o concentración al vacío. Éste consiste en la remoción del solvente líquido sin la aplicación excesiva de calor. Debido a la reducción

en la presión que hace que se disminuya el punto de ebullición, el extracto permanece relativamente “intacto” (Labrotovap, 2019). Se ha reportado el uso de un evaporador rotatorio en una gran cantidad de trabajos. Este equipo es usado para concentrar extractos de todo tipo de pigmentos (Tabla 1). La temperatura típica usada para la evaporación es entre los 35 – 55°C, dependiendo del tipo de disolvente. Una lista de diferentes disolventes y consejos para una destilación eficiente se encuentra en la literatura de la empresa Büchi (fabricante de secadores por aspersion, evaporadores rotatorios y otros equipos) (Büchi, n.d.; Portmann et al, 2007). Como ejemplo, Kaimainen et al. (2015) usan el rotavapor para la concentración de extractos de betabel rojo. Ellos enfatizan en que la intensidad del olor y resabio de betalaínas de betabel microencapsuladas con maltodextrina en jugos disminuía; los autores hipotetizan que esa disminución se debió a que en el proceso de concentración por evaporación de agua (rotavapor) se removieron compuestos aromáticos del betabel.

**Membranas.** Otra operación unitaria es la concentración por ultrafiltración con membranas. Se basa en la separación de compuestos de una solución aplicando presión hidrostática. La solución se obtiene con los compuestos que permean la membrana y los que no lo hacen; no involucra temperaturas, ni agentes químicos y es altamente eficiente (Castro-Enríquez et al., 2019). Se ha utilizado para la concentración de antocianinas, betalaínas y carotenoides (Castro-Enríquez et al., 2019; Chaparro et al., 2016; Cissé et al., 2011; Pap et al., 2012; Quirós et al., 2019). En algunos casos, es necesario realizar una licuefacción enzimática previa a la separación. Quirós et al. (2019) estudiaron el efecto de ambos tratamientos concentración térmica al vacío y ultrafiltración para concentrar antocianinas extraídas del residuo de *blackberry* (*Rubus adenotrichos* Schltdl.). La concentración al vacío

fue a 40°C/70mmHg/4 h, hasta alcanzar la mitad del volumen original. Para la ultrafiltración se tuvieron las siguientes condiciones: membrana de flujo cruzado/2 kDa/total área de membrana efectiva de 0.0139m<sup>2</sup>/temperatura constante 35°C/20 bar (El permeado se recolecto cada 5 min). Posteriormente fueron microencapsulados mediante secado por aspersión usando maltodextrina como agente encapsulante. Los resultados mostraron que ambos tratamientos, concentración térmica al vacío y ultrafiltración, retuvieron las antocianinas (92.8 y 48.4%, respectivamente). El pretratamiento al vacío fue el más efectivo en la retención de pigmentos; ambos el color como la cantidad de antocianinas fueron más altos en comparación con el uso de membranas.

### ***Calentamiento***

Otros investigadores sugieren que un calentamiento previo a la extracción (escaldado del material vegetal) o al extracto (pasteurización) ayudan con la inactivación de enzimas o disminución de la carga microbiana. Hernández-Martínez et al. (2017) realizaron un hervido previo a los pigmentos de betabel (*B. vulgaris*) extraídos mecánicamente, con la finalidad de inactivar enzimas periplásmicas, las cuales pueden degradar los pigmentos a una forma inestable (Beacham, 1979). Por otro lado, el escaldado del material puede ayudar con la extracción de pigmentos debido a la disrupción celular (Looi et al., 2019). Sin embargo, el efecto térmico de ambos pretratamientos podría causar una pérdida en los pigmentos debido a reacciones de deglucosilación, descarboxilación, deshidrogenación o isomerización (Sawicki & Wiczowski, 2018) o lixiviación al líquido usado en el escaldado (Looi et al., 2019). Sun-Waterhouse & Waterhouse (2015) mencionan que la aplicación de calor a la mezcla (50°C) antes de la aspersión también puede inactivar enzimas como la

polifenoloxidasas y la peroxidasa, ayudando a mantener los pigmentos y su color; sin embargo, podría haber cambios en las propiedades fisicoquímicas y bioactivas (Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015). Janiszewska-Turak, (2017) evaluaron el efecto del escaldado (90°C/5min) de zanahorias (*Daucus carota*) antes de la extracción de pigmentos para su encapsulación; ellos reportan disminución en el contenido de carotenoides y aumento en el tamaño de partícula y la densidad de los polvos.

Además de la inactivación de enzimas, el precalentamiento del extracto alimentado al secador puede disminuir la viscosidad, evitando la obstrucción del atomizador y optimizando la eficiencia en el secado (Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015). Lo anterior podría deberse a una mejor solubilización de compuestos en el extracto tales como la pectina o por el comportamiento reológico de los agentes encapsulantes, pues algunos tienden a disminuir su viscosidad con el aumento de la temperatura.

### ***Pretratamientos biológicos***

Algunos investigadores se han enfocado en la reducción de la viscosidad de la mezcla de alimentación, ya que se podrían generar problemas durante la aspersión; para evitarlo, puede hacerse uso de la licuefacción enzimática (Chang et al., 2020; Navarrete-Solis et al., 2020; Wong, & Tan, 2017; Wong et al., 2018). El tratamiento enzimático con Pectinex Ultra SP-L (1.5% (v/w)) junto con Celluclast (1% (v/w) /2.5h/50°C) aplicado en pureé de plátano (*Musa acuminata*) redujo el 88% de la viscosidad (Wong et al., 2018). Otros estudios han reportado una reducción del 94% (Celluzyme y Pectinex Ultra Pulp 1:1, 1% / 3h / 37°C) (Navarrete-

Solis et al., 2020) y 97.6% (Pectinex Ultra SP-L 1% v/w y Celluclast 0.5% v/w, durante 2.5h / 50°C) (Wong, & Tan, 2017) de la viscosidad de pureé de yaca (*Artocarpus heterophyllus*), antes de la microencapsulación.

Como es sabido, los microorganismos (hongos, bacterias, levaduras) producen una gran variedad de enzimas (Poondla et al., 2016) durante los procesos de respiración (crecimiento) y durante la fermentación (producción de metabolitos). Por lo que, durante la fermentación pueden producirse pectinasas, las cuales pueden reemplazar a las enzimas comerciales, ya que presentan la ventaja de no requerir medios especiales para su producción (Poondla et al., 2015). Junto con la reducción de la viscosidad, debido a la actividad enzimática, la fermentación disminuye los azúcares, sobre todo los fermentables, que son los de bajo peso molecular (baja temperatura de transición vítrea) (Bhandari et al., 1993), ayudando a que el polvo obtenido no se adhiera a las paredes del secador (Santos et al., 2018). Kumar, & Giridhar, (2017) fermentaron extractos de *Basella rubra* L., ricos en betalaínas, con *Saccharomyces cerevisiae* para la disminución en la cantidad de azúcares, y la posterior encapsulación mediante secado por aspersión usando maltodextrina como agente encapsulante. En trabajos previos, los autores reportan que el contenido de betalaínas incrementó con la fermentación previa (Sravan Kumar et al., 2014). Czyżowska et al., (2006) observaron que el jugo de betabel tratado con diferentes cepas de bacterias ácido-lácticas estabilizó las betalaínas.

**Tabla 1.** Encapsulación de pigmentos (fuente, extracción de pigmentos, homogeneización y condición de secado) con diferentes materiales de pared y parámetros de color.

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	L*	a*	b*	Referencia
<b>Anthocyanins</b>								
Dried saffron petals ( <i>Crocus sativus</i> L.)	Maceration (acidified ethanol, 50% v/v, pH=2)/ stirring (24 h, three times)/ concentration (RotEva 30 min/40°C, 10°Bx)	Predissolved EA (1:10, w/v) in water/ mixed extract-EA (1:5, w/w, ratio) at pH = 2/ homogenizer (10 min)	130°C/80°C	Barley $\beta$ -glucan $\beta$ cyclodextrin	40.33 61.95	27.32 13.45	35.21 81.47	Ahmad et al., 2017
Barberry ( <i>Berberis vulgaris</i> )	Puree maceration (acidified ethanol 75% v/v)/ 2h at 50°C/ 2h at room temperature/ filtration/ concentration (RotEva 40°C, 15°Bx)	Predissolved EA (70°C/1h stirring, overnight rehydration/cold temperature, gelatin in hot water)/ mixed extract-EA (20% solids)	150°C/ 100°C;	MDX MDX-GA (3:1) MDX-gelatin (3:1)	66.18 73.27 69.81	41.74 34.74 30.83	2.75 -0.14 0.62	Akhavan Mahdavi et al., 2016
Roselle calyces ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> )	Calyces (600g) maceration (600L ethanol 50%)/ stirring (2h)/ centrifugation (4500 rpm)/ filtration/ concentration (RotEva 35°C)	Direct addition of EA		Mesquite gum 1% (w/v) Mesquite gum 2% (w/v) Mesquite gum 3% (w/v) Mesquite gum 4% (w/v) Mesquite gum 5% (w/v)	23.96 26.6 30.54 29.19 24.05	36.02 38.5 42.84 40.37 32.83	14.84 16.41 18.66 17.68 14.56	Ochoa-Velasco et al., 2017
Xkijit ( <i>Renealmia alpina</i> )	Peel maceration (1:5 w/v, ethanol 95%/ 90 min/ multiple times)/ filtration/ concentration (RotEva 55°C)	Direct addition of EA (20°Bx)/ magnetic stirring homogenization	150/98°C	MDX MDX-GA GA	22.97 28.3 25.3	21.85 23.12 18.24	-7.06 -6.58 -7.48	Jimenez-Gonzalez et al., 2018
Pomegranate ( <i>Punica granatum</i> L.)	Mechanical extraction/ stored (4°C/overnight)/ clarification (spiral ultrafiltration, 40 KD)/ adjusted (12°Bx)	Direct addition of EA	124/48°C; rotatory atomizer 11,3000 rpm	MDX 25% MDX 35% MDX 45%	46.83 47.5 46.88	30.02 31.53 27.36	-2.7 -3.44 -3.87	Jafari et al., 2017
Red cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L. f. <i>rubra</i> )	Blanched cabbage maceration (1:2 w/v, citric acid solution (2%)/ 16h/ darkness)/ filtration	Direct addition of EA/ ultraturrax homogenization (4000xg/5 min)	140°C 140°C 160°C 160°C 140°C 160°C 160°C	GA 10% GA 15% GA 10% GA 15% Polydextrose 10% Polydextrose 15% Polydextrose 10% Polydextrose 15%	72.37 75.79 71.85 74.06 71.46 73.32 64.58 71.78	36.54 30.13 34.96 31.47 39.33 35.64 43.19 37.48	-4.26 -4.07 -2.43 -4.6 -0.52 -0.68 3.85 0.08	Bernstein & Noreña, 2015
Blueberry pomace ( <i>Vaccinium cv. Elliot</i> )	Enzymatic extraction (Pectimax Ultra SP-L and Cellubrix, 1:1, 0.1 mL/ 100g pomace, incubation (1h), 20-50°C, shaking 200 rpm, darkness) Enzymatic treated and untreated maceration (1:3 w/v, citric acid solution, pH = 2/ 50°C/ 1h)/ stirring (200 rpm)/ filtration	Predissolved EA (3%, 60°C)/ mixed extract (2%)/ shear homogenizer (3000 rpm/5 min)/ filtered	150/80°C	Inulin Enzymatic extract-inulin Alginate Enzymatic extract-alginate	27.3 28.9 28 29.8	1.6 1.4 1.5 1.2	0.1 0.4 -2.1 -1.7	Waterhouse et al., 2017

## Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante

**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	L*	a*	b*	Referencia
Grape Bordeaux ( <i>Vitis labrusca</i> ) Grape Cabernet Sauvignon ( <i>Vitis vinifera</i> )	Pomace maceration (1:20 w/v, ethanol 40%, shaking 125rpm/180min/ 25°C)/centrifugation (6000 rpm/10 min)/concentration (RotEva 40°C)	Magnetic stirring homogenization/ room temperature	130/80°C	Yeast biomass ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) 5%	35.49	17.57	-3.17	Rubio et al., 2020
Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	Mechanically crushed/ centrifugation (21,000×g/ 5min)/ filtration	Direct addition of EA -extract ultraturrax homogenization (21,000×g/ 5 min)	125°C/ ultrasonic nozzle 50-60kHz	MDX 1% MDX-GA 4:1 w/w, 1%	37.1 56.2 44.2 56	30.8 36.4 32.2 38.9	-3.6 -0.8 -6.9 -3.4	Tatar Turan et al., 2016
Elderberry ( <i>Sambucus nigra</i> )	Grinded sieved lyophilized elderberry/ acetone maceration (3:10 w/v, 80%)/ sonication assisted extraction (ultrasonic bath 23°C/15 min)/ filtration/ petroleum ether addition (shake 5min)/ aqueous phase concentration (RotEva, 15°Bx)	Direct addition of EA -extract heating (60°C)/ magnetic stirring (hydration)/ ultraturrax homogenization (8,000 rpm/3 min)	140°C	β-glucan 0.5% β-glucan 1% β-glucan 2% β-glucan 3% MDX-GA (92.5:7.5)	77.38 76.49 77.88 79.49 79.65	10.07 9.84 11.25 9.97 9.63	2.48 2.56 2.62 2.26 2.35	Sobieralska & Kurek, 2019
Sour cherry juice ( <i>Prunus cerasus</i> L.)	Mechanical pressing/ filtration/ clarification/ concentration (RotEva 35°C, 61°Bx)	Predissolved EA (magnetic stirred)/ extract mixed (30% final total solids)	170/83±2°C; rotatory atomizer 18,000 rpm	MDX MDX-GA (4:1) MDX-GA (1:1) MDX-GA (1:4) GA MDX-WPC (9:1) MDX-WPC (4:1) MDX-WPC (7:3) MDX-WPC (3:2) GA-WPC (9:1) GA-WPC (4:1) GA-WPC (7:3) GA-WPC (3:2)	37.39 34.65 34.83 33.88 35.31 40.7 43.32 37.86 40.19 40.67 34.98 39.47 35.53	33.53 31.04 28.09 26.49 24.05 26.94 25.53 21.1 19.44 18.87 14.72 15.21 15.06	12.98 14.27 16.33 19.05 20.57 12.46 13.61 13.04 15.57 20.79 17.46 18.97 17.81	Sarabandi et al., 2017
Blue maize grains ( <i>Zea mays</i> L.)	Maize flour maceration (ethanol 80%/ 30 min/ stirring)/ sonication assisted extraction (30 min)/ centrifugation (6700×g/ 15min/ 4°C)/ concentration (RotEva 40°C)	Direct addition of EA (120g/L)/ magnetic stirring homogenization	150/80°C	MDX MDX-pectin (84:16)	45.57 40.19	C = 4.4 C = 11	H = 340.3 H = 357.5	Ruiz Canizales et al., 2019
<i>Hibiscus sabdariffa</i> flowers	Maceration (1:1 w/v, citric acid solution (2%), under turbolization (60 Hz/ 5 min); sonication assisted extraction (ultrasonic bath (37 kHz)/ 20min)/ filtration	Direct addition of EA/ ultraturrax homogenization (18,000 rpm/ 25°C)	180°C/ nozzle size (0.7, 1.0 and 1.2 mm)	GA 10% chitosan 10% MDX 10%	45.2 45.1 46.2 43 41.7 43.4 46.1 45 50.4	32.8 34 36.3 19.9 27.7 5.5 32.8 36.1 27.8	4.9 5.2 6.2 -7.7 -2 -0.5 4.9 5.2 2.9	Martins et al., 2020



**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	L*	a*	b*	Referencia
				GA-chitosan (1:1, 10%)	38.4	18.7	18.7	
					40.4	21.9	-5.4	
					38.4	18.7	-5.4	
				GA-MDX (1:1, 10%)	46.7	32.7	4.6	
					42.5	33.6	5.2	
					48.3	35.6	4.4	
				Chitosan-MDX (1:1, 10%)	42.8	25.2	-3	
					39.9	26.7	-2.9	
					41.4	25.2	-5	
				GA-chitosan-MDX (0.3:0.3:0.3, 10%)	40.2	23.1	-3	
					40.6	29.3	-0.9	
					41.7	27.7	-2	
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Maceration (1.5:10 w/v, 100°C water/10 min)/filtration	Magnetic stirring homogenization	180/80°C	MDX-GA 95:5	37.79	29.09	2.58	Archaina et al., 2019
				MDX-GA 85:15	36.32	30.87	2.61	
				MDX-GA 70:30	36.87	29.28	2.68	
Jucara pulp ( <i>Euterpe edulis</i> Martius)	homogenization (3min/in a blender)/filtration		160/86 °C	None	14.76	8	-4.04	Pereira et al., 2020
Rose residues ( <i>Rosa rugosa</i> )	Oven-dried ground rose residue maceration (1:20 w/v, acidified ethanol 55%, pH = 3)/ sonication assisted extraction (ultrasound/60 min/ 55°C)/ filtration/ concentration (RotEva 45°C)	Stirring homogenization (35°C/ 30min)	170/80°C	MDX-GA (1:1, 10%)	77.57	11.7	5.86	Yu & Lv, 2019
Black chokeberry ( <i>Aronia melanocarpa</i> )	Ground lyophilized fruit maceration (3:1 w/v, acetone 80%)/ sonication assisted extraction (ultrasonication 15 min)/ filtration/ petroleum ether addition (shake 5min)/ concentration (RotEva until no acetone smell detected)	Predissolved MDX and dietary fibers (74:6 ratio)/ heating (60°C)/ stirring/ extract mixed/ ultraturrax homogenization (8,000rpm / 3min)	140°C	MDX-GA	74.01	11.2	4.92	Pieczkolan & Kurek, 2019
				MDX-inulin	73.75	10.91	4.99	
				MDX-β-glucan	71.64	12.03	5.39	
				MDX-pectin	71.05	11.75	5.23	
				MDX-guar gum	74.4	9.04	4.43	
Tamarillo ( <i>Solanum betaceum</i> ) fruit	Mechanical extraction/ dark cold storing/ concentration adjust (12°Bx)	Direct addition of EA (20% w/w)/ homogenization (9,500rpm/ 10 min); filtration	150/70°C; rotary atomizer 15,000 rpm	MDX 10DE	67.45	17.43	5.01	Ramakrishnan et al., 2018
				GA	64.66	20.23	6.23	
				n-octenyl succinic anhydride modified starch	64.53	20.23	6.42	
				n-octenyl succinic anhydride modified starch	66.32	18.85	5.32	
				Resistant MDX	67.48	17.43	5.16	

**Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**

**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	L*	a*	b*	Referencia
<b>Betalains</b>								
Red beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Mechanical extraction	Direct addition of EA (30% w/w)	150/90°C	MDX	13.76	18.6	7.65	Antigo et al., 2018
				MDX-xanthan gum (99.5:0.5)	13.15	19.24	9.35	
Red beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.) juice	Mechanical extraction/ concentration (RotEva 55°C/ 200mbar, 22°Bx)	Direct addition of EA (20% total solids; single and binary mixture)/ blender homogenization	170°C	MDX 10DE	23.54	26.17	3.12	Bazaria & Kumar, 2017
				MDX 20DE	22.87	36.93	1.98	
				GA	21.34	35.34	2.26	
				MDX10DE-MDX20DE	22.07	34.67	2.06	
				MDX10DE-GA	24.89	39.03	2.34	
MDX20DE-GA	21.93	31.76	2.65					
Cactus fruit ( <i>Opuntia megacantha</i> ) orange pulp	Mechanically crushed fruit/ filtration (seed removal)/ lyophilization (1.9 and 2.3% wb moisture content)/ maceration (1:10 w/w, phosphate buffer pH = 5.5)	Direct addition of EA/ magnetic stirring homogenization	170/77°C	Extract-MDX-cladode mucilage, 1:1:0.225 w/w/w	50.42	1.18	20.69	Otálora et al., 2018
Cactus fruit ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) purple pulp	Mechanically crushed fruit/ filtration (seed removal)/ lyophilization (1.9 and 2.3% wb moisture content)/ maceration (1:5 w/w, phosphate buffer pH = 5)	Direct addition of EA/ magnetic stirring homogenization	170/98°C	Extract-MDX-cladode mucilage (1:1:0.225)	66.46	29.99	-4.84	Otálora et al., 2015
				MDX	66.04	30.14	-5.28	
Pitaya ( <i>Stenocereus griseus</i> ) red pulp	Manually crushed pulp/ filtration (seed removal)/ juice (10.2°Bx; total solids 87.55 g/L)	Direct addition of EA (MDX and pectin material mixed at 40:20 and 60:30 ratios, added to the pitaya juice 60% and 90% total solids, respectively), homogenization (5 min)/ magnetic stirring homogenization (400rpm/ 1 h)	150°C; 1.5 L/h	MDX-pectin 40:20	39.52	44.19	11.31	García-Lucas et al., 2017
			180°C; 1.5 L/h	MDX-pectin 40:20	42.35	41.7	20.61	
			150°C; 2 L/h	MDX-pectin 40:20	39.24	44.56	10.24	
			180°C; 2 L/h	MDX-pectin 40:20	40.79	43.5	15.24	
			150°C; 1.5 L/h	MDX-pectin 60:30	41.05	42.68	11.49	
			180°C; 1.5 L/h	MDX-pectin 60:30	41.35	42.17	14.94	
			150°C; 2 L/h	MDX-pectin 60:30	39.38	43.26	11.28	
180°C; 2 L/h	MDX-pectin 60:30	39.7	43.05	12.1				
Pitaya ( <i>Stenocereus prunosus</i> )	Pulp maceration (1:2, ethanol 50%/ 15h)/filtration/concentration (RotEva)/sugar and mucilage removal	Direct addition of EA/ storage (4°C)/ filtration	140/80°C	Phosphorylated potato native starch 10%	63.59	C = 28.71	H = 8.08	Vargas-Campos et al., 2018
				Succinylated potato native starch 10%	60.68	C = 26.25	H = 9.3	
				N-Lok 10%	67	C = 23.21	H = 4.66	
<i>Stenocereus queretaroensis</i> pulp	Manually mature pulp obtention	Mixed (pulp/ cladode)/ agitation (200 rpm/ 30 min)/ filtration	140/70°C	Cladode (90:6.1)	56.28	31.37	27.13	Delia et al., 2019
				Cladode (45:6.1)	58.58	25.16	27.89	
	Manually unmaturred pulp obtention	Cladode (90:6.1)	67.63	12.75	50.59			
		Cladode (45:6.1)	66.24	10.73	47.38			
<i>Stenocereus queretaroensis</i> skin	Mature fruit peel	Mixed (skin/ acidified cladode, 1% acetic acid)/ agitation (200rpm/ 30 min)/ filtration		Cladode (90:6.1)	52.58	29.28	21.94	
				Cladode (45:6.1)	57.89	18.68	22.95	
	Unmaturred fruit peel	Cladode (90:6.1)	56.43	23.43	48.47			
		Cladode (45:6.1)	61.25	7.6	51.39			
<i>Escontria chiotilla</i> pulp	Manually mature pulp obtention	Mixed (pulp/ cladode)/ agitation (200 rpm/ 30 min)/ filtration		Cladode (90:6.1)	61.42	8.06	29.26	
				Cladode (45:6.1)	56.7	6.59	24.61	

**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Referencia
<i>Escontria chiotilla</i> skin	Mature fruit peel	Mixed (skin/ acidified cladode, 1% acetic acid)/ agitation (200rpm/ 30 min)/filtration		Cladode (90:6.1)	58.45	12.35	31.78	
				Cladode (45:6.1)	54.33	17.91	35.66	
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Mechanically extracted juice/ filtration	Direct addition of EA (10%)	150/90°C	MDX	34.45	37.08	10.35	Antigo et al., 2020
				MDX-freeze dried chia (99.5:0.5)	32.8	35.57	11.11	
				MDX-oven dried chia (99.5:0.5)	36.64	32.23	9.91	
				MDX-GA (1:1)	34.99	35.24	8.91	
				MDX	39.79	33.53	9.07	
				MDX-freeze dried chia (99.5:0.5)	36.88	33.41	9.41	
				MDX-oven dried chia (99.5:0.5)	35.47	32.71	10.72	
<i>Bougainvillea glabra</i> bracts	Ground dried bracts maceration (water 1:20 w/v)/ magnetic stirring (5 min)/ cooling (0°C)/ microwave-assisted extraction (2450 MHz, 600W, 13 min)/ filtration	Direct addition of EA/ ultraturrax homogenization (6,500 rpm/ 5min)	160°C	Polydextrose 15%	40.76	26.15	-12.72	Kuhn et al., 2020
				Inulin 15%	42.17	21.99	-11.36	
				Polydextrose-inulin 7.5-7.50%	41.34	23.93	-12.12	
				Inulin-egg albumin (pH 5) 7.5-7.5%	37.77	18.73	-9.33	
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Boiled (98°C) fruit/ cutting (small pieces)/mechanically extracted juice/ filtration/centrifugation (13,000 rpm)	Direct addition of EA/ magnetic stirring homogenization (1000 rpm/ 45 min)	120/60°C	Tetraethyl orthosilicate	75.18	39.1	2.45	Hernández-Martínez et al., 2017
					74.8	37.12	1.12	
Garambullo ( <i>Myrtillocactus geometrizans</i> )	Mechanically grinded (water 20% v/w)/ filtration/ centrifugation (13,000 rpm)							
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Mechanically extracted juice/ filtration	Direct addition of EA/ ultraturrax homogenization (5000rpm/ 5min)	130/85°C	Inulin-WPI 1:2	52.8	<i>C</i> = 30.5	<i>H</i> = 6.6	Carmo et al., 2019
				Inulin-WPI 1:1	47.6	<i>C</i> = 31.9	<i>H</i> = 6.5	
			150/95°C	Inulin-WPI 2:1	52.1	<i>C</i> = 29.9	<i>H</i> = 5.1	
				Inulin-WPI 1:2	54.3	<i>C</i> = 29.6	<i>H</i> = 9.2	
				Inulin-WPI 1:1	51.9	<i>C</i> = 30.5	<i>H</i> = 8.4	
			170/108°C	Inulin-WPI 2:1	51	<i>C</i> = 29.8	<i>H</i> = 10.7	
				Inulin-WPI 1:2	52.2	<i>C</i> = 31.4	<i>H</i> = 5.7	
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Mechanically extracted juice/ filtration		130/70°C	Pumpkin protein isolate	72.4	1.47	23.91	Čakarević et al., 2020
					51.8	<i>C</i> = 31.1	<i>H</i> = 9.4	
<b>Carotenoids</b>								
Asian pears ( <i>Pyrus pyrifolia</i> Nakai cv. Niitaka)	Mechanically extracted juice (1,325 kgf/cm <sup>2</sup> / 3 min)/ filtration	Direct addition of EA/ blender homogenization	130/82°C, rotatory disc atomizer	MDX 15%	93.3	-3.16	13.39	Lee et al., 2017
				MDX 20%	94.17	-3.43	11.01	
				MDX 25%	94.48	-3.94	10.29	

## Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante

**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Referencia
			150/85°C, rotatory disc atomizer	MDX 15%	92.54	-3.17	14.46	
				MDX 20%	93.68	-3.5	13.02	
				MDX 25%	94.19	-3.48	10.29	
			170/88°C, rotatory disc atomizer	MDX 15%	88.18	-1.33	20.86	
				MDX 20%	91.51	-1.89	14.14	
				MDX 25%	92.27	-2.59	13.64	
Papaya ( <i>Carica papaya</i> cv <i>Sunrise solo</i> )	Manually pulp obtention	Direct addition of EA	150°C	MDX 14%	14.07	3.99	14.49	Gomes et al., 2018
Golden kiwi ( <i>Actinidia</i> sp)	Mechanically pureed peeled fruit/ centrifugation (5,000×g/ 25min/ 4°C)/ filtration	Direct addition of EA shear homogenization (500rpm/ 1min/ 3bursts)	150°C	Skim milk-MDX	839	-1.05	25.7	Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015
		Direct addition of EA to extract and residue (skim milk, 40:60 ratio, MDX 3%)/ shear homogenization (1000rpm/ 1min/ 3bursts)		Skim milk-MDX (warmed feed)	84.1	-1.03	26.5	
				Skim milk-MDX	74.8	-1.18	33.9	
Mango ( <i>Mangifera indica</i> )	Mechanically puree obtention/ filtration	Direct addition of EA	150°C	None	80.33	5.99	50.34	Zotarelli et al., 2017
				MDX	87.71	1.51	32.24	
Jackfruit ( <i>Artocarpus heterophyllus</i> )	Blended pulp (22,000 rpm/30 s)/ enzymatic liquefaction (Pectinex®, Celluclast®, 50°C)/ enzyme deactivation (90°C/ 5min)	Direct addition of EA	140°C	MDX 20% at 1:1 ratio	87.33	0.87	37.95	Wong & Tan, 2017
			150°C	MDX 20% at 1:1 ratio	85.98	0.86	41.26	
			160°C	MDX 20% at 1:1 ratio	86.49	0.9	38.89	
			170°C	MDX 20% at 1:1 ratio	85.59	0.83	40.81	
			180°C	MDX 20% at 1:1 ratio	86.02	0.87	40.56	
			160°C	MDX 10%	85.11	0.87	37.95	
			160°C	MDX 15%	85.98	0.88	41.26	
			160°C	MDX 20%	86.49	0.82	38.88	
			160°C	MDX 25%	85.59	0.83	40.81	
			160°C	MDX 30%	86.02	0.87	40.56	
Annatto ( <i>Bixa orellana</i> ) seeds	Hexane extraction/ methanol extraction (twice)/ ethyl acetate extraction (15min/ magnetic stirring)/ concentration (RotEva)/ recovering (dichloromethane/ ethanol)/ crystal formation (-18°C/ 12h)	Dissolved crystals (ethanol)/ combination with EA (20°Bx)/ magnetic stirring homogenization (50°C/ 30min)	150°C	MDX: GA (100:0)	48.9	7.88	17.55	Tupuna et al., 2018
				MDX: GA (85:15)	49.45	5.58	17.05	
				MDX: GA (65:35)	47.7	7	18.9	
				MDX: GA (50:50)	45.77	9.74	19.11	
				MDX: GA (35:65)	46.24	6.3	17.84	
				MDX: GA (15:85)	48	4.12	16	
				MDX: GA (0:100)	46.83	6.43	14.9	
Mandarin ( <i>Citrus unshiu</i> ) beverage		Direct addition of EA	120°C; rotary atomizer 9,860rpm	MDX 20DE-corn syrup (30%, 1:1)	84.64	5.16	35.77	Lee et al., 2016
			135°C; rotary atomizer 9,860rpm		82.45	5.27	34.93	
			150°C; rotary atomizer 9,860rpm		81.51	5.61	34.1	

## Artículos

**Tabla 1.** (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	Referencia
			120°C; rotary atomizer 9,860rpm	MDX 20DE-corn syrup (35%, 1:1)	85.33	5.15	35.1	
			135°C; rotary atomizer 9,860rpm		84.01	5.25	35.81	
			150°C; rotary atomizer 9,860rpm		82.63	5.57	33.98	
			120°C; rotary atomizer 9,860rpm	MDX 20DE-corn syrup (40%, 1:1)	86.17	5.11	34.78	
			135°C; rotary atomizer 9,860rpm		84.59	5.24	34.68	
			150°C; rotary atomizer 9,860rpm		83.61	5.56	33.77	
Tomato ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	Mechanically extracted juice (pressure-type juicer)/ filtration		140°C	MDX 30:70	53.33	$a^*/b^* = 0.84$		Sidhu et al., 2019
				MDX 40:60	54.0	$a^*/b^* = 1.15$		
				MDX 50:50	52.0	$a^*/b^* = 1.53$		
			150°C	MDX 30:70	53.78	$a^*/b^* = 0.79$		
				MDX 40:60	54.33	$a^*/b^* = 1.05$		
				MDX 50:50	52.23	$a^*/b^* = 1.40$		
			160°C	MDX 30:70	54.09	$a^*/b^* = 0.76$		
				MDX 40:60	57	$a^*/b^* = 1.00$		
				MDX 50:50	53.32	$a^*/b^* = 1.13$		
Orange ( <i>Citrus sinensis</i> ) concentrate juice		Direct addition of EA (33°Bx final concentration)	Superheat steam 200°C; steam 40°C vacuum 5kPa; vacuum jacket 50°C	MDX 12DE 50%	88.8	-2.84	46.52	Islam et al., 2016
				MDX 12DE 60%	91.78	-3.99	37.39	
				MDX 12DE 70%	92.86	-3.53	31.22	
<b>Chlorophylls</b>								
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Biomass growth		150/95°C	None	54.5	-11.01	44.34	Palabiyik et al., 2018
			160/95°C	None	56.95	-11.22	44.54	
			170/95°C	None	56.39	-11.32	44.4	
			180/95°C	None	56.52	-11.67	46.25	
			190/95°C	None	55.13	-10.95	47.28	
			200/95°C	None	56.57	-9.42	48.43	
<i>IsochrYSIS galbana</i>			150/95°C	None	40.99	-3.74	49.54	
			160/95°C	None	40.02	-4.08	41.12	
			170/95°C	None	39.47	-4.58	42.21	
			180/95°C	None	38.35	-4.97	42.55	
			190/95°C	None	39.75	-5.4	44.16	
			200/95°C	None	38.81	-5.41	44.19	
Freeze-dried chlorophylls	Pigment dilution (bergabest MCT oil 60/40)	Predissolved EA (30% w/v/ 60°C/ 3h; cooled 4°C/ 12h, 1.5% w/v tween 80/ blender homogenization) /ultraturax homogenization (core-EA 2:1, 20,500 rpm/ 3min)	145/95°C; rotary atomizer 10×10kPa	GA:MD (5:5) 30%	21.55	-12.1	13.39	Kang et al., 2019
				GA:MD (3:7) 30%	25.41	-17.4	20.08	
				GA:MD (0:10) 30%	26.22	-16.72	19.64	

Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante

Tabla 1. (continuación)

Material	Método de extracción	Método de homogeneización	Condiciones de secado	Agentes de encapsulación	L*	a*	b*	Referencia
<i>Moringa oleifera</i> <i>Lam</i> leaf juice	Blanched leaves/ mechanical extraction (10g/ 25mL water)/ filtration	Direct addition of EA	116°C	MDX 12DE 14%	62	-1	31	Looi et al., 2019
			120°C	MDX 12DE 8%	64	0	28	
			120°C	MDX 12DE 20%	70	0	26	
			130°C	MDX 12DE 5.5%	66	3	26	
			130°C	MDX 12DE 14%	66	1	29	
			130°C	MDX 12DE 14%	59	-1	31	
			130°C	MDX 12DE 14%	73	0	22	
			130°C	MDX 12DE 14%	74	0	21	
			130°C	MDX 12DE 14%	57	-1	34	
			130°C	MDX 12DE 22.5%	70	-1	25	
			140°C	MDX 12DE 8%	60	-1	29	
			140°C	MDX 12DE 20%	63	-1	30	
			144°C	MDX 12DE 14%	67	0	26	
Spinach leaves ( <i>Spinach oleracea</i> )	Dried ground leaves maceration (ethanol 80%/ 24h)/ stabilization (115°C/ 30min/zinc 300ppm)/ concentration (RotEva)	Diluted extract (1:1)/ direct addition of EA	180/80°C; rotatory disc 28,140 rpm	Agave fructans 0.5%	24.12	4.93	9.92	Femat-Castañeda et al., 2019
				Agave fructans 1%	30.44	6.98	17.67	
				Agave fructans 1.5%	32.76	7.99	19.92	
				MDX 0.5%	24.08	3.88	9	
				MDX 1%	28.36	6.37	15.82	
				MDX 1.5%	32.62	7.88	19.55	
			190/80°C; rotatory disc 28,140 rpm	Agave fructans 0.5%	25.12	4.85	9.12	
				Agave fructans 1%	30.6	7.04	26.3	
				Agave fructans 1.5%	32.36	5.46	19.94	
				MDX 0.5%	23.84	4.26	8.74	
				MDX 1%	30.29	6.99	17.3	
				MDX 1.5%	30.96	6.91	17.74	
				150°C	Direct addition of EA shear homogenization (500rpm/ 1min/ 3bursts)	Skim milk-MDX	82.3	
Skim milk-MDX (warmed feed)	93.6	-3.86	25.9					
Skim milk-MDX	73.8	-7.82	27.8					
<b>Others</b>								
<i>Chryseobacterium artocarp</i>	Pre-growth bacteria (nutrient broth, 30°C/ 200rpm/ 24h)/ centrifugation (10,000rpm/ 10min)/ maceration (acetone 5%)/ ultrasound assisted extraction (twice/ 20s)/ centrifugation (8,000rpm/ 10min)/ concentration (RotEva)	Direct addition of EA (2:1 v/w)/ magnetic stirring homogenization	140-220/85°C	GA	69.92	19.4	26.5	Venil et al., 2016
<i>Sargassum muticum</i>	Soaking (1:10 w/v, water)/ agitation (97°C/ 210min)/ filtration		140°C	MDX 10DE 4%		C = 16.17	H = 261	Tun Norbrillinda et al., 2016

MDX, maltodextrin; GA, gum arabic; C, chrome; H, Hue; RotEva, rotary evaporator; EA, Encapsulation Agent; wb, wet basis.

## Métodos de homogenización

Antes del proceso de secado por aspersión es necesario la incorporación de agentes encapsulantes (portadores). Los portadores protegen a los pigmentos. Para llevar a cabo la incorporación del agente encapsulante se debe aplicar algún método de homogenización. Algunos investigadores han demostrado el efecto del método de homogenización sobre algunas características de los polvos obtenidos, por ejemplo, en el tamaño de partícula o la higroscopicidad (Martins et al., 2013), que son muy importantes en la estabilidad.

### *Agitación magnética*

Uno de los métodos más utilizados para obtener una buena mezcla de extracto y portador es la agitación magnética. Es el método más común y el más utilizado en diferentes industrias. Su uso es muy común para pigmentos hidrosolubles (antocianinas o betalaínas); sin embargo, también se ha usado para mezclas de pigmentos liposolubles (carotenoides) (Tabla 1). Consiste en un magneto que crea un campo magnético rotatorio que hace girar a una barra (fabricada en teflón o vidrio, inertes químicamente que pueden ser esterilizados) inmersa en el líquido que se desea homogeneizar con el portador; el sistema puede o no incluir calentamiento (Loos, 2015). Algunas desventajas son la cantidad o el volumen que puedan mezclar, la viscosidad del sistema y la exposición al ambiente si el sistema no está cerrado (Loos, 2015). Debido al bajo efecto de cizallamiento, los tiempos de mezclado pueden prolongarse. Se han reportado tiempos entre 30 a 60 min para llevar a cabo una homogenización adecuada utilizando velocidades entre 200 a 1000 rpm (Delia et al., 2019; García-Lucas et al., 2017; Hernández-Martínez et al., 2017). Por otro lado, la agitación

magnética también se ha utilizado para rehidratar los agentes encapsulantes antes de mezclarse con los pigmentos (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Pieczykolan & Kurek, 2019; Sarabandi et al., 2017; Sobieralska & Kurek, 2019); esto permite manipular los agentes encapsulantes y observar si es necesario el calentamiento para una buena homogenización de la mezcla.

### ***Agitación mecánica (high shearing)***

Si se necesita mayor fuerza de agitación para la disolución del agente encapsulante o la mezcla de líquidos inmiscibles, se utilizan métodos más potentes. Los mezcladores de alta velocidad o alto cizallamiento como el ultraturrax, tienen la ventaja de poder dispersar una fase inmiscible en la fase continua. Sin embargo, la velocidad dependerá del equipo utilizado. Se han reportado velocidades de hasta 20,500 rpm (Kang et al., 2019), con la ventaja de trabajar por tiempos de mezclado cortos (entre 3 y 10 min), lo que depende de la velocidad (Tabla 1). La agitación mecánica es común para la preparación de emulsiones de pigmentos liposolubles, como los carotenoides. El equipo consiste en un motor que hace rotar una propela, con aletas en la parte inferior (Loos, 2015), a la que se le pueden adaptar con facilidad diferentes tipos de aletas o cabezales para poder reducir el tamaño de partícula en la emulsión (Janiszewska et al., 2015) y facilitar la homogeneización, mejorando las propiedades físicas finales del polvo. Una de las desventajas del uso de este tipo de equipos es la incorporación de oxígeno debido al alto cizallamiento y la formación del vórtice durante la homogenización, pudiendo afectar la estabilidad de los pigmentos.



### *Otros*

Otro método de homogenización es el uso de ultrasonido. Este se basa en la aplicación de ondas de sonido que se propagan en el líquido, creando pequeñas burbujas que al colapsar generan cavitación/fenómeno de microjet (generando presiones alrededor de 2000 atm), promoviendo la reducción del tamaño de partículas (Loos, 2015). Además, se produce una disolución y homogeneización rápida de los materiales, debido a la ruptura de interacciones moleculares (Loos, 2015). Las condiciones usuales de frecuencia de operación son entre 16 – 100 kHz (Ferreira et al., 2019).

### **Algunos agentes encapsulantes**

La adición de agentes encapsulantes (portadores) es necesaria debido a la baja temperatura de transición vítrea de algunos componentes en los extractos: glucosa, fructosa y sacarosa (Bhandari et al., 1997). Esos componentes pueden hacer que el polvo se adhiera en la cámara de secado, disminuyendo los rendimientos y generando problemas con el manejo del polvo. Múltiples investigadores han mencionan que la selección del agente de encapsulación es muy importante, ya que influirá el comportamiento del polvo. Los agentes encapsulantes deben ser capaces de formar una pared (una barrera), poder formar una emulsión, tener baja viscosidad a altas concentraciones, tener baja higroscopicidad, ser biodegradables, ser resistentes al tracto gastrointestinal, y ser estables e inertes en el producto alimenticio durante el procesamiento, almacenamiento y consumo (de Boer et al., 2019; Janiszewska et al., 2015; Özkan, & Ersus Bilek, 2014; Pereira et al., 2020). Sin embargo, en algunos casos podría no ser necesaria la adición del agente encapsulante; Pereira et al., (2020) obtuvieron un polvo

de juçara (*Euterpe edulis*) sin la adición de agentes encapsulantes. De acuerdo con los autores, la obtención del polvo sin agente encapsulante se debió a la baja cantidad de carbohidratos y de ácidos orgánicos.

### ***Maltodextrina y algunas mezclas con maltodextrina***

Los agentes más usados para la encapsulación de pigmentos son: maltodextrina (MDX), goma arábiga (GA), almidones de diferentes fuentes, almidones modificados, proteínas de diferentes fuentes, gelatina, alginato y pectinas (Tabla 1). La concentración de los agentes encapsulantes varía ampliamente; puede ser desde 1 hasta 50%. La selección del tipo de encapsulante y concentración dependerá de factores tales como la viscosidad óptima para la formación de gotas durante la aspersión y las características del equipo (Janiszewska et al., 2015).

La maltodextrina se ha usado para la encapsulación de toda clase de pigmentos (Tabla 1). El uso de MDX como agente encapsulante ha demostrado mejorar la estabilidad de los pigmentos. Con el fin de probar si la combinación de MDX con otros agentes mejora las propiedades de los polvos, diferentes autores han utilizado combinaciones con otros agentes, siendo la más común la goma arábiga. Akhavan Mahdavi et al., (2016) reportaron que la combinación de MDX-GA para la encapsulación de antocianinas de barberry (*Berberis vulgaris*) presentaba la mejor eficiencia de encapsulación en comparación con mezclas como MDX-gelatina o MDX sola. En este mismo estudio, los autores reportan que la mezcla MDX-GA tuvo las mejores propiedades físicas. Sarabandi et al., (2017) observaron que la combinación de MDX-GA mejoró el rendimiento de antocianinas de cereza ácida (*Prunus*

*cerasus* L.), al igual que MDX o GA con aislado de proteína concentrado en al menos 10%; sin embargo, las diferentes combinaciones tuvieron una disminución en el valor del parámetro  $a^*$  de color, a diferencia de la MDX sola. Jimenez-Gonzalez et al., (2018) reportan colores más “vivos” para antocianinas de polvos obtenidos con MDX-GA de jengibre de jardín (xkijit) (*Renealmia alpinia*), en comparación con los obtenidos con GA y MDX solos. La mezcla MDX-GA también ha sido usada en la encapsulación de betalaínas de betabel (*B. vulgaris*), se observó que la mezcla MDX 10DE-GA presentó los más altos rendimientos y valores en el parámetro  $a^*$  de color (Bazaria & Kumar, 2017). Para la encapsulación de norbixina de semillas de axiote (*Bixa orellana*), Tupuna et al. (2018) probaron diferentes relaciones de MDX y GA; la combinación 50:50 produjo el mejor rendimiento (80% aproximadamente), pero una eficiencia de encapsulación del 30% aproximadamente, a diferencia del uso de GA: la eficiencia y el rendimiento fueron aproximadamente del 50 y del 60%, respectivamente. Kang et al. (2019) observaron en la encapsulación de clorofilas que el incremento en la cantidad de MDX con respecto a GA mejoró la eficiencia de encapsulación y la estabilidad termina de las clorofilas. Ellos también observaron que las clorofilas se unían a los agentes encapsulantes dentro de las microcápsulas mediante puentes de hidrogeno y/o esterificación (Kang et al., 2019).

Martins et al. (2020) evaluaron el efecto de diferentes combinaciones (binarias y terciarias) de MDX, GA y quitosano y el tamaño de la boquilla de aspersion (0.7, 1.0 y 1.2 mm) en la encapsulación de antocianinas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). A diferencia de lo reportado por otros autores, la mejor combinación para obtener os polvos no fue con MDX, sino la de GA-quitosano (usando una boquilla de 1 mm); el polvo presentó las mejores características en contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y estructura homogénea, pero no la mayor intensidad de color, esta fue para la MDX, GA o su combinación.

Se ha usado la combinación de MDX con pectina para encapsular antocianinas de maíz azul (*Zea mays* L.) (Ruiz Canizales et al., 2019) y betalaínas de pitaya (*Stenocereus griseus*) (García-Lucas et al., 2017). En ambos estudios, la combinación mejoro la estabilidad de los pigmentos durante el almacenamiento: se obtuvieron partículas homogéneas y bien formadas. La adición de pectina incrementa la temperatura de  $T_g$ , la cual está relacionada con algunos mecanismos de deterioro de la microcápsula y del compuesto activo (Naik et al., 2017). Por otro lado, Ruiz Canizales et al. (2019) menciona que la combinación de MDX y pectina favorece la liberación de antocianinas durante la fase intestinal, pero también se reduce la absorción.

### ***Goma de mezquite***

En la actualidad, un reemplazo de la GA es la goma de mezquite (GMez). La GMez es un exudado del árbol de mezquite (*Prosopis* spp.), originario de México (Vernon-Carter et al., 2000). La GMez es altamente soluble en agua y tiene baja viscosidad en solución; su uso es común en alimentos; sin embargo, se le considera de menor calidad debido a que en solución toma una coloración ámbar (López-Franco et al., 2009). En general, muy pocos estudios han reportado el uso de la goma de mezquite. Jiménez-Aguilar *et al.* (2011) encapsularon antocianinas de mora azul (*Vaccinium corymbosum*) mediante secado por aspersión. En este trabajo, la temperatura de secado fue el factor principal que afectó la degradación de los pigmentos. En un estudio más reciente, Ochoa-Velasco *et al.* (2017) encapsularon antocianinas de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*); ellos probaron diferentes concentraciones de GMez (1, 2, 3, 4 y 5 %). Los resultados obtenidos mostraron que el incremento de la cantidad de GMez en la mezcla de alimentación no tuvo efecto en la

humedad del producto final, pero se incrementa el rendimiento. Los autores mencionan que la adición excesiva de goma al extracto genera polvos con baja calidad nutricional debido a la proporción entre agente encapsulante/compuesto activo. Además, el incremento en la concentración de GMez afectó el color del producto, disminuyendo los valores del parámetro de color  $a^*$ . No obstante, gracias al uso de la GMez, el contenido de antocianinas y el color puede mantenerse con ligeros cambios, hasta por un año en condiciones de refrigeración (4°C).

### ***Algunos mucílagos***

Otros autores han propuesto el uso de mucílago de nopal (Delia et al., 2019; Otálora et al., 2015) y mucílago de chía (Antigo et al., 2020) para la encapsulación de betalaínas de cactáceas (pitaya (*Stenocereus queretaroensis*) y jiotilla (*Escontria chiotilla*)) y betabel, respectivamente. El mucílago de nopal, solo o en combinación con MDX, mostró buenos resultados en la encapsulación y estabilización de los pigmentos de pitaya (*S. queretaroensis*) y jiotilla (*E. chiotilla*). Los encapsulados mostrando baja humedad, forma uniforme y esférica y la ventaja de contener un alto contenido de fibra dietética. Por otro lado, el mucílago de chía (en especial el obtenido por liofilización) mejoró la capacidad de retención de betalaínas en los encapsulados en comparación que el uso de MDX sola o la mezcla MDX-GA. Los autores también reportan una buena estabilidad a diferentes pHs y temperatura, cuando se disuelven los polvos.

### ***Fructanos***

Los fructanos, solos o en combinación, se han usado también para la encapsulación de pigmentos. Adicionalmente, pueden actuar como prebióticos en el intestino. Los fructanos, encontrados en diferentes variedades de plantas y producidos por algunas bacterias y hongos, son usados ampliamente en la industria alimentaria como sustitutos de grasa (Stick & Williams, 2009) y para la encapsulación de pigmentos (Tabla 1). Femat-Castañeda et al., (2019) utilizaron fructanos de agave (*Agave* spp.) para la encapsulación de clorofilas. Los fructanos produjeron encapsulados de partículas más estables en comparación con los obtenidos con MDX. Ambos MDX y los fructanos, bajo condiciones normales de almacenamiento, extendieron la vida de anaquel de las clorofilas encapsuladas. En el mismo estudio se mostró que la temperatura de transición vítrea de los fructanos es más baja que la de la MDX lo que puede influenciar en el secado y la temperatura de almacenamiento. La inulina, otro tipo de fructanos, se ha utilizado para la encapsulación de antocianinas (Pieczykolan, & Kurek, 2019; Waterhouse et al., 2017) y betalaínas (Carmo et al., 2019; Kuhn et al., 2020).

### ***Otros agentes***

Por otro lado, Rubio et al., (2020) sugirieron el uso de biomasa de levadura como agente encapsulante de antocianinas de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) and Bordeaux (*Vitis labrusca*). Ellos reportaron que la de levadura de cerveza funcionó bien como agente encapsulante. Los autores demostraron también que el polvo obtenido presentaba características adecuadas para almacenarlo: baja humedad, baja higroscopicidad, y tamaño de partícula no perceptible sensorialmente. La levadura, además de ayudar a mantener

estables los pigmentos, los hacia más biodisponibles durante la digestión gastrointestinal comparado con los pigmentos libres.

## Valores de color de los pigmentos microencapsulados

### *Color*

La encapsulación, protege y extiende la vida de anaquel de los pigmentos; no obstante, pueden generar un cambio en el color debido a los agentes encapsulantes. El sistema de color más común para mediciones en alimentos es el *CIEL\*a\*b\**. Proporciona diferencias de color más uniformes de acuerdo a lo percibido por el ojo humano (Pathare et al., 2013). El sistema consiste en dos coordenadas de color (*a\** verde-rojo y *b\** azul-amarillo) y una de luminosidad (*L\**, negro-blanco). En la Tabla 1 se muestran los valores para los parámetros de color *L\**, *a\** y *b\**, obtenidos después de la encapsulación de diferentes pigmentos. Los valores triestímulo del sistema *CIEL\*a\*b\**, son usados para el cálculo de los atributos de color *Croma* (saturación o pureza del color, *C*) y ángulo de *Hue* (*H°*, tono): 0° = rojo, 90° = amarillo, 180° = verde y 270° = azul. El cálculo de estos dos atributos de color se obtiene mediante las siguientes ecuaciones (Ecs. 1, 2).

$$Chroma (C^*) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

$$Hue (H^\circ) = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

Sin embargo, es necesario tomar en cuenta las siguientes consideraciones para obtener el ángulo correcto de acuerdo al diagrama de color: i) los valores reportados deben

ser en grados, ii) si  $a^*$  y  $b^*$  son positivos, el valor de  $H^\circ$  se conserva tal cual ya que se encuentra en el primer cuadrante (rojo-amarillo,  $0^\circ$ - $90^\circ$ ), ii) si  $a^*$  es negativo y  $b^*$  es positivo, el color se encuentra en el segundo cuadrante (amarillo-verde,  $90^\circ$ - $180^\circ$ ); por lo que, es necesario sumar  $180^\circ$  al valor de  $H^\circ$ ; iii) si  $a^*$  y  $b^*$  son negativos, el color se encuentra en el tercer cuadrante (verde-azul,  $180^\circ$ - $270^\circ$ ) y es necesario sumar  $180^\circ$  al valor de  $H^\circ$ , iv) si  $a^*$  es positivo y  $b^*$  negativo, el valor de  $H^\circ$  se encuentra en el cuarto cuadrante (azul-rojo,  $270^\circ$ - $360^\circ$  ( $0^\circ$ )) y es necesario sumar  $360^\circ$  al valor de  $H^\circ$  (Baqueiro-Peña, & Guerrero-Beltrán, 2017). Una representación se muestra en la Figura 8.

Estudios previos muestra la relación entre la pérdida del color y la pérdida de los pigmentos. Se hace uso de herramientas como la estadística y la probabilísticas para observar el comportamiento de los materiales de encapsulación y el compuesto activo bajo diferentes condiciones de almacenamiento. Los cambios que se producen durante el almacenamiento dependen de factores físicos tales como la temperatura, la exposición a la luz y el oxígeno, entre otros. En la Tabla 2 se resumen algunos trabajos que han estudiado la degradación de diferentes compuestos bajo diferentes condiciones de almacenamiento.



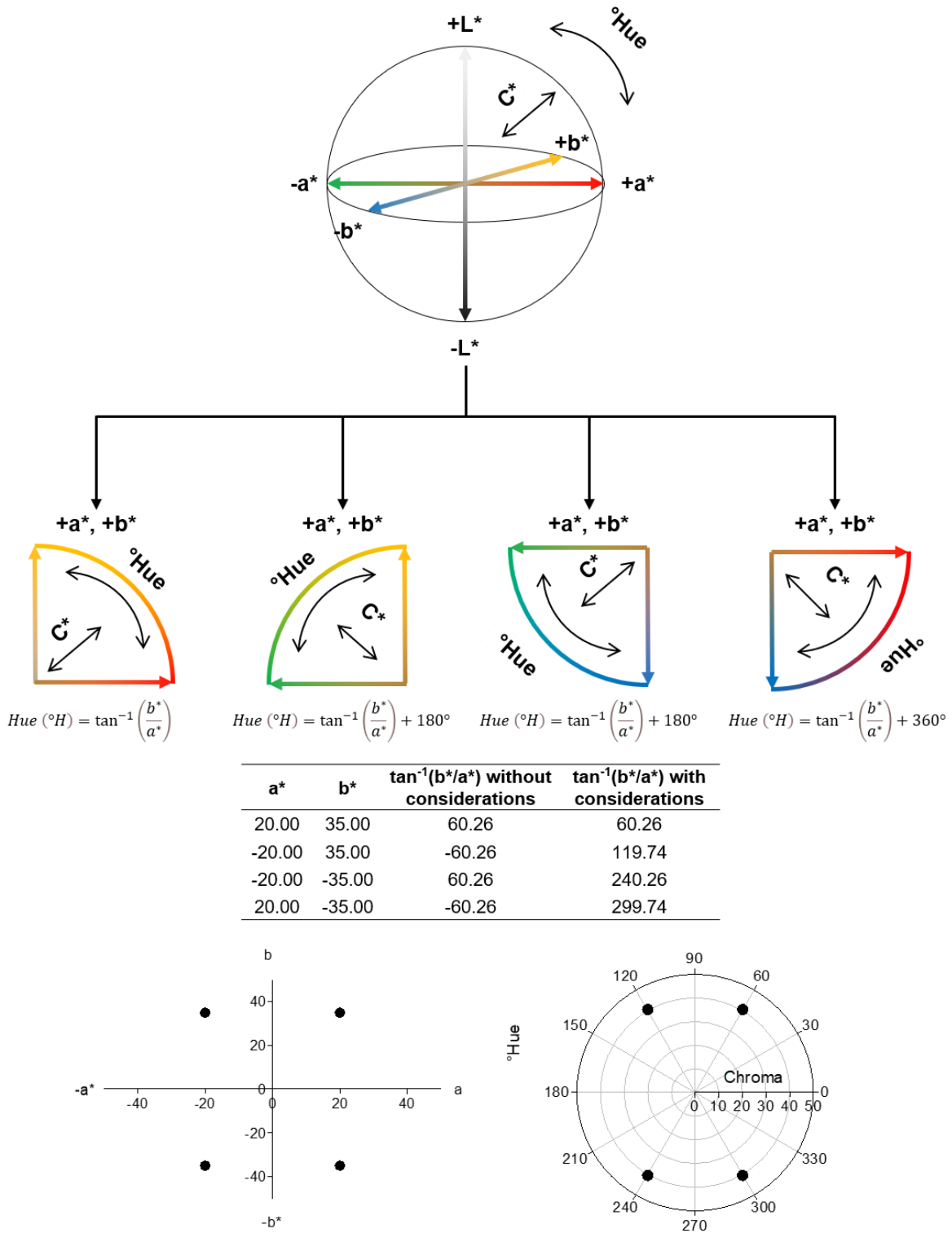


Figura 8. Schematic considerations to *Hue* value calculation.

## **Degradación de color**

La degradación de pigmentos (antocianinas, betalaínas, carotenoides y clorofilas) puede ocurrir de diferentes formas. Las antocianinas, cuando se encuentran en medio acuoso con cambios en pH, pueden cambiar su color debido a los cambios en la estructura química. Además, estas existen en su forma de cation flavilo a pH menor que 2; en valores de pH entre 3 y 6; existen como pseudobase carbinol lo que promueve su forma chalconada, ambas sin color (Rodríguez-Amaya, 2019). Debido a los procesos térmicos, puede ocurrir una polimerización o rompimiento de enlaces; sin embargo, esto depende del tipo de antocianina, la fuente y el grado de polimerización, pH y temperatura, entre otros factores (Rodríguez-Amaya, 2019). Por otro lado, las betacianinas pueden tener cambios debido a la isomerización, hidrólisis, descarboxilación y deshidrogenación causando cambios en el color (Rodríguez-Amaya, 2019a). Con respecto a los carotenoides, la isomerización de los E-carotenoides a Z-carotenoides, causada por el calor, ácidos o exposición a la luz, está acompañada por la oxidación y pérdida de color (Rodríguez-Amaya, 2019; 2019a). Finalmente, el principal cambio en las clorofilas es debido a la formación de feofitina producido por los tratamientos térmicos o la reducción del pH (Rodríguez-Amaya, 2015).

El color de los pigmentos naturales se puede degradar debido a diferentes factores fisicoquímicos. El modelo cinético que describe el comportamiento de los datos suele cumplir con una cinética de primer orden (Ecuaciones 3 y 4). En ocasiones se ha reportado un comportamiento en dos etapas, donde en la primera etapa corresponde a la degradación de los pigmentos en la superficie de las microcápsulas y la segunda etapa corresponde a la degradación de los pigmentos en el interior (Tonon et al., 2020; Saénz et al., 2009).

$$\text{Log} \left( \frac{C(t)}{C_0} \right) = -kt \quad (3)$$

$$t_{1/2} = -\frac{\ln(2)}{k} \quad (4)$$

donde  $C_0$  corresponde a la concentración inicial de pigmentos presentes en la microcápsula,  $C(t)$  es la concentración de pigmentos a diferentes tiempos ( $t$ ) de almacenamiento (minutos, horas, días o meses),  $k$  es la constante cinética de primer orden (minutos<sup>-1</sup>, horas<sup>-1</sup>, días<sup>-1</sup> o meses<sup>-1</sup>) y  $t_{1/2}$  es el tiempo de vida media (minutos, horas, días, meses) de degradación de los pigmentos. A continuación, se discuten algunos factores fisicoquímicos que afectan la degradación de los pigmentos microencapsulados.

**Efecto de la temperatura.** El incremento de la temperatura durante el almacenamiento genera un incremento en los valores de la constante de degradación  $k$ , lo cual se ve reflejado en la pérdida de los pigmentos y un  $t_{1/2}$  más corto (Ersus & Yurdagel, 2007; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2011; Yu y Lv, 2019; Ruiz Canizales *et al.*, 2018; Shaaruddin *et al.*, 2019; Tupuna *et al.*, 2018). Por el contrario, las temperaturas de refrigeración disminuyen el valor de  $k$ , ya que, el almacenamiento a temperaturas bajas limita la movilidad de las moléculas de agua presentes en los pigmentos microencapsulados. Temperaturas por debajo de la  $T_g$  hacen menos probable que sucedan las reacciones de degradación de los pigmentos. Sin embargo, la reducción de la temperatura por debajo de la  $T_g$  no es el único parámetro del cual depende la estabilidad de los pigmentos microencapsulados (Pitalua *et al.*, 2010).

***Efecto del agente encapsulante.*** Tonon et al. (2010) observaron la influencia de cuatro tipos de agente encapsulante (GA, MDX 10ED, MDX 20ED, almidón de tapioca) en la estabilidad de antocianinas de açai (*Euterpe oleracea*). Ellos mantuvieron las condiciones de almacenamiento en dos temperaturas (25 y 35°C) y dos valores diferentes de  $a_w$  (0.328, 0.529). Observaron que la MDX 10ED generó los pigmentos microencapsulados más resistentes en todas las condiciones de almacenamiento evaluadas, mostrando valores de  $k$  menores en comparación con los microencapsulados de MDX 20ED, GA y almidón de tapioca. En la encapsulación de antocianinas de blackberry (*Morus nigra*), la MDX presentó mejor estabilidad en comparación con la GA y la mezcla MDX:GA (1:1) (Ferrari et al., 2013). Pavón-García et al. (2011) demostraron que la adición de goma de mezquite aumenta la estabilidad de la MDX cuando se aplica a antocianinas de muicle (*Justicia spicigera*) a 20, 35 y 40°C y diferentes humedades relativas. La adición de mucílago de nopal y MDX en la encapsulación de betalaínas de tuna roa (*Opuntia ficus-indica*) disminuye el tiempo de vida de los pigmentos microencapsulados en casi la mitad que utilizando únicamente MDX (Otálora et al., 2015). El uso de almidones modificados puede mejorar o incrementar la estabilidad de los pigmentos; tal es el caso del uso de Capsul o Hi-cap (marcas comerciales) en la encapsulación de carotenoides de zanahoria (*Daucus carota*): los valores de la constante de degradación disminuyeron y aumentaron los valores de la vida media en más del doble (Shaaruddin et al., 2019). Lo anterior puede estar relacionado con la compatibilidad del compuesto activo con el agente encapsulante y una formación de moléculas más estables (Jimenez-Gonzalez et al., 2018).

**Tabla 2.** Modelos cinéticos de degradación de pigmentos encapsulados mediante secado por aspersión durante su almacenamiento.

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference
Açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> )	aw=0.328 T=25°C	MDX 10ED	$1.4 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.5 \times 10^{-3} \text{ b}$	1248.29 (days)	Tonon et al., 2010
	aw=0.529 T=25°C		$2.6 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.6 \times 10^{-3} \text{ b}$	962.58 (days)	
	aw=0.328 T=35°C		$2.1 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.7 \times 10^{-3} \text{ b}$	880.35 (days)	
	aw=0.529 T=35°C	MDX 20ED	$5.7 \times 10^{-3} \text{ a} - 1.0 \times 10^{-3} \text{ b}$	411.55 (days)	
	aw=0.328 T=25°C		$3.2 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.6 \times 10^{-3} \text{ b}$	909.58 (days)	
	aw=0.529 T=25°C		$4.5 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.7 \times 10^{-3} \text{ b}$	677.64 (days)	
	aw=0.328 T=35°C	GA	$3.9 \times 10^{-3} \text{ a} - 1.1 \times 10^{-3} \text{ b}$	516.15 (days)	
	aw=0.529 T=35°C		$8.4 \times 10^{-3} \text{ a} - 1.0 \times 10^{-3} \text{ b}$	260.55 (days)	
	aw=0.328 T=25°C		$2.9 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.6 \times 10^{-3} \text{ b}$	978.75 (days)	
	aw=0.529 T=25°C	Tapioca starch	$4.9 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.6 \times 10^{-3} \text{ b}$	826.25 (days)	
	aw=0.328 T=35°C		$4.1 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.7 \times 10^{-3} \text{ b}$	767.07 (days)	
	aw=0.529 T=35°C		$9.1 \times 10^{-3} \text{ a} - 1.0 \times 10^{-3} \text{ b}$	328.55 (days)	
	aw=0.328 T=25°C		$1.5 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.8 \times 10^{-3} \text{ b}$	813.81 (days)	
	aw=0.529 T=25°C		$3.0 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.8 \times 10^{-3} \text{ b}$	695.18 (days)	
aw=0.328 T=35°C		$2.8 \times 10^{-3} \text{ a} - 0.9 \times 10^{-3} \text{ b}$	655.27 (days)		
aw=0.529 T=35°C		$5.7 \times 10^{-3} \text{ a} - 1.8 \times 10^{-3} \text{ b}$	248.14 (days)		
Black carrot (EX) ( <i>Daucus carota</i> )	T=4°C Dark	Stardri 10 (10DE)	$0.8 \times 10^{-3}$	28 (months)	Ersus & Yurdagel, 2007
	T=25°C Dark		$2.3 \times 10^{-3}$	10 (months)	
	T=4°C Dark	Glucodry 210 (20-23DE)	$0.8 \times 10^{-3}$	28 (months)	
	T=25°C Dark		$2.3 \times 10^{-3}$	10 (months)	
	T=4°C Dark	MDX 28-31DE	$0.9 \times 10^{-3}$	25 (months)	
	T=25°C Dark		$2.5 \times 10^{-3}$	9 (months)	
T=25°C Light (3000 lx)	Stardri 10 (10DE), glucodry 210 (20-23DE), MDX 28-31DE	$2.4 \times 10^{-3}$	9 (months)		
Blackberry ( <i>Morus nigra</i> )	T=25°C 32.8% RH	MDX	0.0019	373.8 (days)	Ferrari et al., 2013
	T=35°C 35.8% RH		0.0032	213.86 (days)	
	T=25°C 32.8% RH	GA	0.0023	297.48 (days)	
	T=35°C 35.8% RH		0.0031	225.36 (days)	
	T=25°C 32.8% RH	MDX-GA (1:1)	0.002	347.68 (days)	
T=35°C 35.8% RH		0.0027	253.15 (days)		
Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	T=4°C Dark	Mesquite gum	0.0185 (week <sup>-1</sup> )	37 (weeks)	Jiménez-Aguilar et al., 2011
	T=25°C Light		0.0681 (weeks <sup>-1</sup> )	10 (weeks)	
	T=25°C Dark		0.0415 (weeks <sup>-1</sup> )	17 (weeks)	
Jucara ( <i>Euterpe edulis</i> M.)	T=40°C 75% RH	GA (5%) DT=160°C	$48.78 \times 10^{-3}$	14.2 (days)	Bicudo et al., 2015
		Gelatin (5%) DT=160°C	$78.20 \times 10^{-3}$	8.9 (days)	
		MDX (5%) DT=160°C	$62.03 \times 10^{-3}$	11.2 (days)	

## Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante

**Tabla 2.** (continuación)

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference
<i>Justicia spicigera</i>	<i>aw</i> =0.555 T=20°C	GA-MDX (1:1)	$1.06 \times 10^{-3}$	653.91 (days)	Pavón-García et al., 2011
	<i>aw</i> =0.592 T=35°C		$1.37 \times 10^{-3}$	505.94 (days)	
	<i>aw</i> =0.627 T=40°C		$1.46 \times 10^{-3}$	474.75 (days)	
	<i>aw</i> =0.581 T=20°C	Mesquite gum-MDX (1:1)	$0.87 \times 10^{-3}$	790.77 (days)	
	<i>aw</i> =0.587 T=35°C		$1.04 \times 10^{-3}$	666.48 (days)	
	<i>aw</i> =0.648 T=40°C		$1.20 \times 10^{-3}$	577.62 (days)	
Rose ( <i>Rosa rugosa</i> )	T=70°C	GA-MDX (1:1)	$1.45 \times 10^{-3}$	7.97 (h)	Yu & Lv, 2019
	T=80°C		$2.28 \times 10^{-3}$	5.07 (h)	
	T=90°C		$4.07 \times 10^{-3}$	2.84 (h)	
Blue maize ( <i>Zea mays</i> L.)	T=25°C	MDX	$7.47 \times 10^{-4}$	93.13 (days)	Ruiz Canizales et al., 2018
	T=35°C		$8.77 \times 10^{-4}$	81.47 (days)	
	T=45°C		$9.97 \times 10^{-4}$	70.56 (days)	
	T=25°C	MDX-Pectin	$5.80 \times 10^{-4}$	120.87 (days)	
	T=35°C		$7.37 \times 10^{-4}$	94.51 (days)	
	T=45°C		$8.13 \times 10^{-4}$	85.48 (days)	
Red onion ( <i>Allium cepa</i> )	<i>aw</i> =0.108 T=35°C	MDX	$3.52 \times 10^{-3}$	196.92 (days)	Pascual-Pineda et al., 2019
	<i>aw</i> =0.215 T=35°C		$1.95 \times 10^{-3}$	355.46 (days)	
	<i>aw</i> =0.318 T=35°C		$2.37 \times 10^{-3}$	292.47 (days)	
	<i>aw</i> =0.436 T=35°C		$7.41 \times 10^{-3}$	93.54 (days)	
	<i>aw</i> =0.515 T=35°C		$9.99 \times 10^{-3}$	69.38 (days)	
	<i>aw</i> =0.627 T=35°C		$22.26 \times 10^{-3}$	31.14 (days)	
	<i>aw</i> =0.742 T=35°C		$28.91 \times 10^{-3}$	23.98 (days)	
	<i>aw</i> =0.821 T=35°C		$27.88 \times 10^{-3}$	24.86 (days)	
Wine grape byproducts (seeds and skin)	32.8% RH T=25°C	MDX (10%) DT=130°C	0.00294	233.5 (days)	Souza et al., 2014
	32.8% RH T=25°C	MDX (10%) DT=150°C	0.0022	311.31 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (10%) DT=170°C	0.0026	267.4 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (20%) DT=130°C	0.0019	365 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (20%) DT=150°C	0.0018	383.4 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (20%) DT=170°C	0.0015	461.2 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (30%) DT=130°C	0.0016	441.1 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (30%) DT=150°C	0.0018	381.1 (days)	
	32.8% RH T=25°C	MDX (30%) DT=170°C	0.0018	391.3 (days)	
Cactus fruit <i>Opuntia megacantha</i>	T=18°C 90% RH	MDX-CM (1:0.225)	$1.85 \times 10^{-3}$	37.48 (days)	Otalora et al., 2018
	T=18°C 57% RH	MDX-CM (1:0.225)	$1.11 \times 10^{-3}$	62.68 (days)	

**Tabla 2.** (continuación)

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference
Cactus fruit ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	90% RH T=18°C	EX-MDX-CM (1:1:0.225)	0.049	13.9 (days)	Otalora et al., 2015
	75% RH T=18°C		0.013	51 (days)	
	57% RH T=18°C		0.012	54.1 (days)	
	90% RH T=18°C	EX-MDX (1:1)	0.029	23.8 (days)	
	75% RH T=18°C		0.007	103.4 (days)	
	57% RH T=18°C		0.006	117.4 (days)	
Cactus pear ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	T=60°C, force air oven	Pulp-MDX	$1.06 \times 10^{-2}$ b	1.9 (months)	Saéñz et al., 2009
		Pulp-Inulin	$1.07 \times 10^{-2}$ b	2.1 (months)	
		EX-MDX	$7.84 \times 10^{-2}$ a - $1.28 \times 10^{-2}$ b	9 (days, a) - 54 (days, b)	
		EX-Inulin	$3.07 \times 10^{-2}$ a - $0.58 \times 10^{-2}$ b	23 (days, a) - 4 (months, b)	
Purple cactus Pear ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	T=60°C, force air oven	Pulp-SPI	$0.9 \times 10^{-2}$	2.6 (months)	Robert et al., 2015
		Pulp-SPI+MDX (1:1)	$0.5 \times 10^{-2}$	4.6 (months)	
		Pulp-SPI+Inulin (1:1)	$0.8 \times 10^{-2}$	2.9 (months)	
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> )	pH 3 buffer sol (30°C)	MDX	$158.9 \times 10^{-3}$	4.3 (days)	Antigo et al., 2018
	pH 4 buffer sol (30°C)		$163.2 \times 10^{-3}$	4.2 (days)	
	pH 5 buffer sol (30°C)		$189.4 \times 10^{-3}$	3.6 (days)	
	pH 6 buffer sol (30°C)		$215.6 \times 10^{-3}$	3.2 (days)	
	pH 3 buffer sol (30°C)	MDX-XG	$127.3 \times 10^{-3}$	5.4 (days)	
	pH 4 buffer sol (30°C)		$119.1 \times 10^{-3}$	5.8 (days)	
	pH 5 buffer sol (30°C)		$108.4 \times 10^{-3}$	6.3 (days)	
	pH 6 buffer sol (30°C)		$118.8 \times 10^{-3}$	5.8 (days)	
Amaranthus	32% RH T=25°C	MDX 10DE	0.0159 (weeks <sup>-1</sup> )	43.6 (weeks)	Cai & Corke, 2000
	32% RH T=25°C	MDX 25DE	0.0141 (weeks <sup>-1</sup> )	49.02 (weeks)	
	32% RH T=25°C	MDX 10DE-MDX 25DE (1:3)	0.0109 (weeks <sup>-1</sup> )	63.6 (weeks)	
Cactus pear (Betaxanthins)	T=20°C Dark	MDX 6DE	$3.25 \times 10^{-3}$	7.10 (months)	Fernández-López et al., 2018
	T=4°C Dark		$0.43 \times 10^{-3}$	4.41 (years)	
	T=-20°C Dark		$0.23 \times 10^{-3}$	8.34 (years)	
Rosa mosqueta ( <i>Rosa rubiginosa</i> ) trans-β-Carotene	T=25°C Dark	Starch	$6.7 \times 10^{-3}$ (h <sup>-1</sup> )	103.5 (h)	Robert et al., 2003
	T=40°C Dark		$2.5 \times 10^{-2}$ (h <sup>-1</sup> )	27.7 (h)	
	T=55°C Dark		$5.1 \times 10^{-2}$ (h <sup>-1</sup> )	13.6 (h)	
	T=25°C Dark	Gelatin	$1.9 \times 10^{-3}$ (h <sup>-1</sup> )	364.8 (h)	
	T=40°C Dark		$9.5 \times 10^{-3}$ (h <sup>-1</sup> )	73 (h)	
	T=55°C Dark		$3.7 \times 10^{-2}$ (h <sup>-1</sup> )	18.7 (h)	

**Tabla 2.** (continuación)

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference	
trans-L-Lycopene	T=25°C Dark	Starch	7.5 × 10 <sup>-3</sup> (h <sup>-1</sup> )	92.4 (h)		
	T=40°C (dark)		2.2 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	31.5 (h)		
	T=55°C Dark		4.0 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	17.3 (h)		
	T=25°C Dark	Gelatin	4.6 × 10 <sup>-3</sup> (h <sup>-1</sup> )	150.7 (h)		
	T=40°C Dark		1.5 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	46.2 (h)		
	T=55°C Dark		4.1 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	16.9 (h)		
trans-Rubixanthin	T=25°C Dark	Starch	8.0 × 10 <sup>-3</sup> (h <sup>-1</sup> )	86.6 (h)		
	T=40°C Dark		2.9 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	23.9 (h)		
	T=55°C Dark		6.4 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	10.8 (h)		
	T=25°C Dark	Gelatin	3.2 × 10 <sup>-3</sup> (h <sup>-1</sup> )	216.6 (h)		
	T=40°C Dark		1.8 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	38.5 (h)		
	T=55°C Dark		3.4 × 10 <sup>-2</sup> (h <sup>-1</sup> )	20.4 (h)		
Yellow tamarillo, banana and mango peel powder	90% RH T=18°C	EX:MDX 20DE:	0.05	13.9 (days)	García et al., 2018	
	75% RH T=18°C	MP:BP (1:1:0.5:0.1)	0.044	15.8 (days)		
	50% RH T=18°C	DT=130°C	0.029	23.9 (days)		
	90% RH T=18°C	EX:MDX 20DE:	0.036	19.3 (days)		
	75% RH T=18°C	MP:BP (1:1:1:0.1)	0.036	19.3 (days)		
	50% RH T=18°C	DT=130°C	0.032	21.7 (days)		
Paprika oleoresin (red fraction)	aw=0.108 T=35°C	GA	33.09 × 10 <sup>-3</sup>	20.95 (days)	Rascón et al., 2011	
	aw=0.318 T=35°C		55.73 × 10 <sup>-3</sup>	12.44 (days)		
	aw=0.515 T=35°C		123.86 × 10 <sup>-3</sup>	5.6 (days)		
	aw=0.743 T=35°C		31.60 × 10 <sup>-3</sup>	21.94 (days)		
	aw=0.108 T=35°C	SPI	197.95 × 10 <sup>-3</sup>	3.5 (days)		
	aw=0.318 T=35°C		201.32 × 10 <sup>-3</sup>	3.44 (days)		
	aw=0.515 T=35°C		196.45 × 10 <sup>-3</sup>	3.53 (days)		
	aw=0.743 T=35°C		40.15 × 10 <sup>-3</sup>	17.26 (days)		
	(yellow fraction)	aw=0.108 T=35°C	GA	37.33 × 10 <sup>-3</sup>		18.57 (days)
		aw=0.318 T=35°C		55.41 × 10 <sup>-3</sup>		12.51 (days)
		aw=0.515 T=35°C		130.17 × 10 <sup>-3</sup>		5.32 (days)
		aw=0.743 T=35°C		31.60 × 10 <sup>-3</sup>		21.94 (days)
		aw=0.108 T=35°C	SPI	190.3 × 10 <sup>-3</sup>		3.64 (days)
		aw=0.318 T=35°C		209.75 × 10 <sup>-3</sup>		3.3 (days)
aw=0.515 T=35°C		217.81 × 10 <sup>-3</sup>		3.18 (days)		
aw=0.743 T=35°C		38.55 × 10 <sup>-3</sup>		17.98 (days)		
Carrot ( <i>Caucus carota</i> )	T=4°C	MDX	0.0045 (weeks <sup>-1</sup> )	154.03 (weeks)	Shaaruddin et al., 2019	
	T=25°C		0.0051 (weeks <sup>-1</sup> )	135.91 (weeks)		
	T=40°C		0.0057 (weeks <sup>-1</sup> )	121.6 (weeks)		
	T=25°C Light		0.0205 (weeks <sup>-1</sup> )	34.66 (weeks)		
	T=4°C	Resistant MDX	0.0049 (weeks <sup>-1</sup> )	141.46 (weeks)		



**Tabla 2.** (continuación)

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference
	T=25°C		0.0085 (weeks <sup>-1</sup> )	81.55 (weeks)	
	T=40°C		0.0112 (weeks <sup>-1</sup> )	61.89 (weeks)	
	T=25°C Light		0.0187 (weeks <sup>-1</sup> )	32.74 (weeks)	
	T=4°C	Capsul	0.0022 (weeks <sup>-1</sup> )	315.07 (weeks)	
	T=25°C		0.0036 (weeks <sup>-1</sup> )	192.54 (weeks)	
	T=40°C		0.0044 (weeks <sup>-1</sup> )	157.53 (weeks)	
	T=25°C Light		0.011 (weeks <sup>-1</sup> )	63.01 (weeks)	
	T=4°C	Hi-cap	0.0016 (weeks <sup>-1</sup> )	433.22 (weeks)	
	T=25°C		0.0018 (weeks <sup>-1</sup> )	385.08 (weeks)	
	T=40°C		0.0029 (weeks <sup>-1</sup> )	239.02 (weeks)	
	T=25°C Light		0.0098 (weeks <sup>-1</sup> )	70.73 (weeks)	
Cagaita ( <i>Eugenia dysenterica</i> DC.)	T=25°C 32.8% RH	GA (10%, DT=120)	0.0029	238.6 (days)	Daza et al., 2016
		GA (20%, DT=120)	0.00313	221.4 (days)	
		GA (30%, DT=120)	0.00253	274.3 (days)	
		GA (10%, DT=140)	0.00311	222.8 (days)	
		GA (20%, DT=140)	0.00303	228.9 (days)	
		GA (30%, DT=140)	0.00257	270 (days)	
		GA (10%, DT=160)	0.00363	190.9 (days)	
		GA (20%, DT=160)	0.00259	267.4 (days)	
		GA (30%, DT=160)	0.00282	246.1 (days)	
		Inulin (20%, DT=120)	0.00593	116.9 (days)	
		Inulin (30%, DT=120)	0.00371	186.6 (days)	
		Inulin (20%, DT=140)	0.00679	102.1 (days)	
		Inulin (30%, DT=140)	0.0053	130.7 (days)	
		Inulin (20%, DT=160)	0.00497	139.3 (days)	
		Inulin (30%, DT=160)	0.00423	163.5 (days)	
Annatto seeds ( <i>Bixa orellana</i> L.)	T=40°C Dark	GA	23.33 × 10 <sup>-3</sup>	29.71 (days)	Tupuna-Yerovi et al., 2019
	T=40°C Light		74.64 × 10 <sup>-3</sup>	9.27 (days)	
Annatto seeds ( <i>Bixa orellana</i> L.)	T60°C	GA	1.30 × 10 <sup>-4</sup> (min <sup>-1</sup> )	88.82 (h)	Tupuna et al 2018
	T=90°C		8.10 × 10 <sup>-4</sup> (min <sup>-1</sup> )	14.26 (h)	
	T=98°C		13.78 × 10 <sup>-4</sup> (min <sup>-1</sup> )	8.39 (h)	
Spinach ( <i>Spinacea oleracea</i> ) β-Carotene	T=4°C, Vacuum	None	2.2 × 10 <sup>-1</sup>	31.62 (days)	Syamila et al., 2019
	T=20°C, Vacuum		2.1 × 10 <sup>-2</sup>	31.99 (days)	
	T=40°C, Vacuum		2.3 × 10 <sup>-2</sup>	30.62 (days)	
	T=4°C		2.2 × 10 <sup>-2</sup>	32.08 (days)	
	T=20°C		2.1 × 10 <sup>-2</sup>	31.99 (days)	
	T=40°C		2.1 × 10 <sup>-2</sup>	33.68 (days)	
	T=20°C, Vacuum, Light		2.5 × 10 <sup>-2</sup>	28.84 (days)	

**Tabla 2.** (continuación)

Product	Storage condition	wall material	K (constant rate) (days <sup>-1</sup> )	t1/2(half-life)	Reference
Spinach	T=4°C, Vacuum		$1.2 \times 10^{-2}$	56.96 (days)	
Lutein	T=20°C, Vacuum		$1.2 \times 10^{-2}$	56.08 (days)	
	T=40°C, Vacuum		$1.4 \times 10^{-2}$	49.98 (days)	
	T=4°C		$1.2 \times 10^{-2}$	58.25 (days)	
	T=20°C		$1.2 \times 10^{-2}$	56.08 (days)	
	T=40°C		$1.5 \times 10^{-2}$	45.63 (days)	
	T=20°C, Vacuum, Light		$1.1 \times 10^{-2}$	58.94 (days)	
Spinach	T=4°C, Vacuum		$0.8 \times 10^{-2}$	84.43 (days)	
$\alpha$ -Tocopherol	T=20°C, Vacuum		$1.0 \times 10^{-2}$	73.44 (days)	
	T=40°C, Vacuum		$1.6 \times 10^{-2}$	42.45 (days)	
	T=4°C		$0.8 \times 10^{-2}$	85.37 (days)	
	T=20°C		$1.0 \times 10^{-2}$	70.94 (days)	
	T=40°C		$1.6 \times 10^{-2}$	42.34 (days)	
	T=20°C, Vacuum, Light	None	$1.1 \times 10^{-2}$	63.19 (days)	
Spinach	T=4°C		0.587 (months <sup>-1</sup> )	1.18 (months)	Caliskan & Dirim, 2017
carotenoids	T=20°C		0.597 (months <sup>-1</sup> )	1.16 (months)	
	T=30°C		0.626 (months <sup>-1</sup> )	1.11 (months)	
chlorophylls	T=4°C		0.433 (months <sup>-1</sup> )	1.6 (months)	
	T=20°C		0.479 (months <sup>-1</sup> )	1.45 (months)	
	T=30°C		0.549 (months <sup>-1</sup> )	1.26 (months)	

<sup>a</sup> Superficial; <sup>b</sup> Internal; EX, extract; DT, drying temperature; MDX, maltodextrin; GA, gum arabic; SPI, soy protein isolate; MP, mango powder; BP, banana powder; XG, xanthan gum; CM, cladode mucilage.

**Efecto de la humedad relativa.** El efecto de la humedad relativa (HR) ha sido evaluado por diferentes investigadores. Rascón et al. (2011) de HR en pigmentos de paprika microencapsulados con GA y Otalora et al. (2015) en betalaínas de tuna roja (*O. ficus-indica*) microencapsuladas con MDX y una mezcla de MDX-mucílago de nopal y Pascual-Pineda et al. (2019) en antocianinas de cebolla roja (*Allium cepa*) microencapsuladas con MDX, entre otros. En general, todos los estudios concluyen que las mejores condiciones de almacenamiento son por debajo del 50% de HR, ya que valores de HR más altos provocan un colapso en la estructura de la cápsula y degradación de los pigmentos encapsulados (Pitalua et al., 2010). Además, se ha observado que por arriba del 70 % HR se produce absorción de agua y cambios de estado físico del polvo (Rascón et al., 2011). Sin embargo, los autores también mencionan que este cambio de estado generó una especie de masa que actuó como una barrera protectora contra el oxígeno, manteniendo los pigmentos durante más tiempo, pero, el cambio de estado dificulta su adición a los materiales cuando se utiliza como colorante en alimentos. Específicamente, Pascual-Pineda et al. (2019) describen como las diferentes etapas del agua afectan en la estabilidad de los microencapsulados; i) en la primer etapa (fase de expansión, actividades de agua bajas), las moléculas de agua sobre la superficie se encuentran compactas y cercanas una con otra, lo cual incrementa la presión de vapor sobre la superficie y los pigmentos pueden ser más estables, ii) en la siguiente etapa (fase de transición expansión – condensación), el agua adsorbida sobre la superficie se convierte en pequeñas gotas, lo cual corresponden con la formación de agua en la monocapa (de acuerdo a la ecuación de GAB) (aquí se podría observar una estabilidad intermedia debido a reacciones químicas), iii) finalmente, a actividades de agua superiores a 0.5 (y temperaturas superiores a la  $T_g$ ), la pared de las microcápsulas pasa al estado gomoso, lo cual

disminuye la viscosidad e incrementa la movilidad molecular, causando además una reducción en la estabilidad, generando disolución, colapso o apelmazamiento.

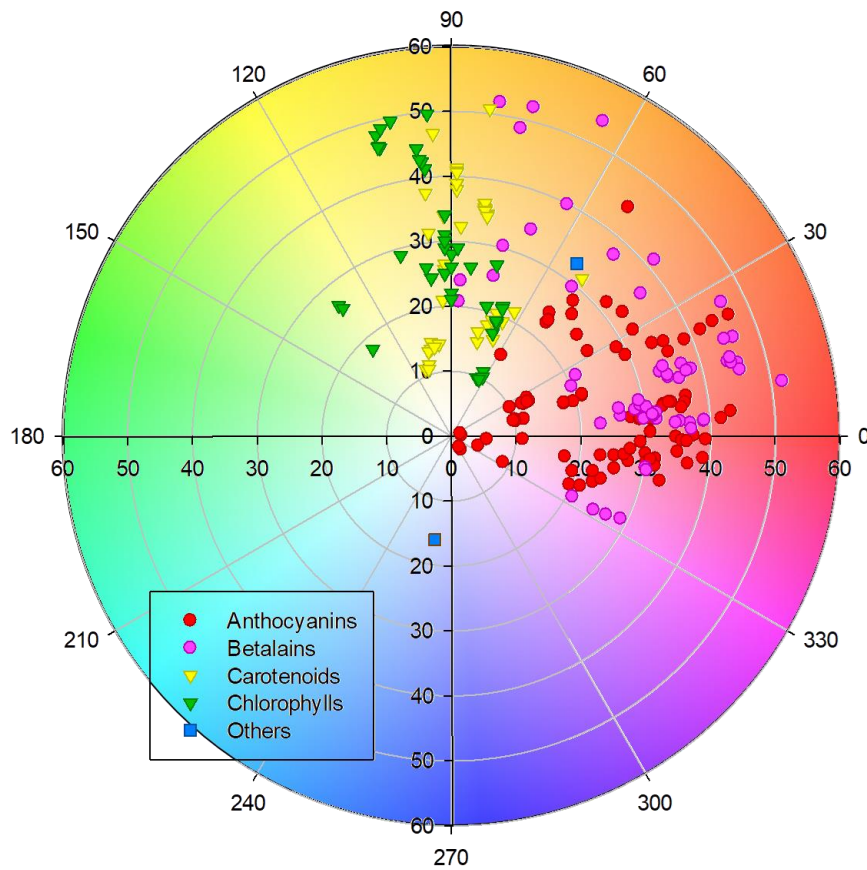
***Influencia por exposición a la luz.*** Se ha observado que antocianinas de blueberry (*Vaccinium ashei* var. Rabbiteye) encapsuladas con goma de mezquite (Jiménez-Aguilar *et al.* (2011), extractos de zanahoria negra (*D. carota*) encapsulados con diferentes agentes (Ersus & Yrudagel (2007), carotenoides de zanahoria naranja (*D. carota*) encapsulados con diferentes agentes (Shaaruddin *et al.* (2019), axiote encapsulado con GA (Tupuna-Yerovi *et al.* (2019) y clorofilas de jugo de espinacas (*Spinacea oleracea*) encapsulados (Syamila *et al.* (2019) se degradaban a mayor velocidad por la exposición de la luz durante el almacenamiento.

## **Valores de color para pigmentos microencapsulados**

Una representación gráfica de los colores observados a partir de pigmentos naturales encapsulados se muestra en la Figura 9. Si bien se han observado una gran variedad de tonos e intensidades de color de los pigmentos microencapsulados, la mayoría son tonos rojos, amarillos y algunos verdes; sin embargo, los colores verdes y azules son menos usuales.

Se ha observado una falta de estudios o reportes de algunos pigmentos naturales, lo que podría estar relacionada con la estabilidad del pigmento. Por ejemplo, las clorofilas a temperaturas moderadas y altas experimentan un cambio estructural, ya que al perder el ion  $Mg^{2+}$  del anillo de porfirina se genera feofitinas, las cuales tiene colores cafés de diferentes tonos (Sant'Anna *et al.*, 2013). Algunas antocianinas presentan tonalidades azules debido al pH, a valores neutros-alcalinos puede observarse esta coloración (Abdullah, Lee, & Lee,

2010; Tang et al., 2019); Sin embargo, a esas condiciones, pueden ser inestables y el color podría palidecer, especialmente si se incrementa la temperatura (Abdullah et al., 2010; Yoshida, Mori, & Kondo, 2009), algunos cambios pueden deberse a cambios fisicoquímicos en el medio. Una opción para obtener pigmentos azules es el uso de hojas de índigo (*Indigofera tinctoria*); la fermentación del extracto de las hojas de la planta genera tonos azules y las moléculas son estables a pH alcalinos (Wahyuningsih et al., 2017). Un estudio reciente, demostró que es posible la obtención de un pigmento azul, a partir del ácido betalámico de betabel, que además no muestra toxicidad al humano y mantiene su color azul incluso en soluciones acuosas (Freitas-Dörr et al., 2020).



**Figura 9.** Grafica para los valores de color reportados como Chrome vs. Hue (el color de fondo no corresponde con el color real).

## Diseños experimentales para incrementar los pigmentos encapsulados

### *Diseño experimental*

Algunos autores se han enfocado a evaluar el efecto que tienen distintas variables en una o varias respuestas (físicas, fisicoquímicas, morfológicas, etc.) en el secado por aspersión. Ellos han mostrado en el uso de métodos matemáticos e inferencias estadísticas como herramienta para explorar el conjunto de variables involucrados en el secado por aspersión. Algunas de las variables más estudiadas son las condiciones de proceso durante el secado: flujo de alimentación, presión, temperatura de entrada o salida, velocidad del aire en ciclón, tipo de atomizador y la mezcla alimentada, donde pueden variar la cantidad de sólidos y el tipo y mezclas de agente encapsulante, entre otros.

Gracias al uso del diseño de experimentales se puede conocer el comportamiento del sistema y reducir la cantidad de experimentos. Para ello, es necesario diseñar una serie de experimentos que describan adecuadamente la respuesta de interés; es decir, utilizar modelos matemáticos para el ajuste de los datos y encontrar los factores que maximicen o minimicen la respuesta (Gunaraj & Murugan, 1999). Si todas las variables pueden ser medidas, se tiene la siguiente expresión (Ec. 5):

$$Y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_k) \quad \therefore \quad k = 1, 2, 3, \dots, n \quad (5)$$

donde  $Y$  es la respuesta del sistema que depende de  $n$  número de variables independientes  $x_k$ . Usualmente, los diferentes modelos siguen un comportamiento que puede ser descrito con un polinomio de segundo orden (Ec. 6) (Pratama et al., 2020).

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_j X_j + \sum \beta_{jj} X_j^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (6)$$

donde  $Y$  es la respuesta descrita por los coeficientes  $\beta_0$ ,  $\beta_j$ ,  $\beta_{jj}$  y  $\beta_{ij}$ , que corresponden al intercepto, coeficiente linear, coeficiente cuadrático y el coeficiente de la interacción, respectivamente.  $X_i$  y  $X_j$  son las variables o factores independientes codificados. Esta codificación se puede llevar a cabo utilizando la siguiente ecuación (Ec. 7).

$$X_i = \frac{x_i - x_0}{\Delta x} \quad (7)$$

donde  $X_i$  es el valor adimensional codificado del factor o variable  $x_i$ ;  $x_0$  es el punto central de  $x_i$  y  $\Delta x$  es incremento entre los valores.

Dentro de los diseños experimentales se pueden encontrar los diseños de barrido (factorial completo, factorial fraccionado o *Plackett-Burman*) para seleccionar los factores o variables que mayor efecto tienen en la respuesta (para una posterior optimización) o los de superficie de respuesta (*Central Composite*, *Box-Behnken*, *Mixture simplex-centroid* o *Mixture simplex-lattice* y diseño *Taguchi*), ya que aplicando la metodología de superficie de respuesta se puede optimizar el proceso (Narendran, Meyyanathan, & Karri, 2019). A continuación, se describirán algunos diseños experimentales.

### ***Diseño factorial completo***

Es un diseño de dos niveles denotado como  $2^k$ , donde k es el número de factores estudiados, usualmente codificado como +1 en el nivel más alto y -1 en el más bajo (Naranderan et al., 2019). El diseño  $2^3$  ha sido usado para evaluar el efecto de la temperatura de entrada ( $T_{in}$ ) (150 y 180°C), la alimentación (1.5 y 2 L/h) y el porcentaje de agente encapsulante (60 y 90%) en características como la humedad, el rendimiento y el color de betalaínas de pitaya (*Stenocereus griseus*) microencapsuladas. Los autores reportaron que los factores individuales ( $T_{in}$ , alimentación y concentración) no afectaron la humedad y el color. Sin embargo, el rendimiento se vio afectado, principalmente por la cantidad de agente encapsulante en las dos siguientes condiciones óptimas: a) 150°C, 1.5 L/h y 90% de agente encapsulante y b) 150° C, 2.0 L/h y 90% de agente encapsulante (García-Lucas et al., 2017).

### ***Diseño factorial fraccionado***

Este tipo de modelo evalúa el efecto de ciertos factores con un menor número de corridas a diferencia del diseño factorial completo (Naranderan et al., 2019). Para obtener la mayor cantidad de antocianinas y las mejores propiedades físicas Ortiz-Basurto et al. (2017) utilizaron un diseño factorial fraccionado  $3^{3-1}$  para encapsular pitanga (*Eugenia uniflora* L.), variando el tipo de material encapsulante (fructanos de agave con alto grado de polimerización, fructanos de agave de alto rendimiento, MDX), la temperatura de salida (110, 120, 140°C) y la proporción entre el pigmento y el agente encapsulante (1:4, 1:5, 1:6). De los nueve experimentos realizados, el tipo de material encapsulante no tuvo efecto en las propiedades fisicoquímicas y de fluidez del encapsulado, pero la retención de antocianinas y las propiedades antioxidantes dependieron de la proporción del pigmento y agente



encapsulante, siendo la proporción 1:6 la que mayor cantidad de retención y protección ofrecía.

### ***Diseño Plackett-Burman***

Es un diseño factorial fraccionado de dos niveles para examinar  $N - 1$  factores donde  $N$  es múltiplo de 4. Aun cuando no considera las interacciones de dos factores, son necesarios muy pocos experimentos (Naranderan et al., 2019). Este diseño toma en cuenta variables insignificantes (*Dummy variables*), las cuales se usan para estimar el error experimental y escribir un modelo de primer orden (Lee et al., 2016). Este diseño fue usado para encontrar cuales variables eran las más significativas en la encapsulación de licopeno usando aire deshumidificado. Se estudió el efecto del contenido de equivalentes de dextrosa (DE) de la MDX (6 y 21), la proporción compuesto activo-agente encapsulante (1:2, 1:6), temperatura de alimentación (30 y 60°C), la temperatura de entrada (120 y 150°C), el flujo de aire de secado (17.5 y 22.75 m<sup>3</sup>/h) y el flujo del aire comprimido (500 y 800 L/h). Se evaluaron la humedad, la densidad, la capacidad de rehidratación, la isomerización de licopeno y la estabilidad al almacenamiento de los microencapsulados. Los parámetros más significativos fueron la proporción compuesto activo-agente encapsulante, la temperatura de secado y la temperatura de alimentación, los cuales fueron usados en un diseño posterior Central Compuesto, con el cual se encontraron las condiciones óptimas de encapsulación: proporción compuesto activo-agente encapsulante, 1:3.3; temperatura de alimentación, 52°C; y temperatura de entrada del aire, 147°C. Obteniendo una eficiencia de encapsulación del 93% (Goula & Adamopoulos, 2012).

### ***Diseño central compuesto***

Este diseño combina un diseño factorial de dos niveles y un diseño de estrella (o puntos axiales) con puntos centrales. Es necesario un número reducido de experimentos para evaluar una gran variedad de combinaciones, además es un modelo robusto. El número de experimentos se basa en  $k^2+2k+\epsilon$ , donde  $\epsilon$  es el número de réplicas centrales y  $k$  es el número de factores (Naranderan et al., 2019). Este diseño es de los más utilizados para explorar el efecto de diferentes variables en el proceso de encapsulación. Chong et al. (2014) evaluaron: a) el efecto de la temperatura de entrada (132 – 188°C), la concentración de MDX (6 – 34%) en betacianinas de amaranto (*Amaranthus gangeticus*) microencapsuladas y b) el efecto de la temperatura de entrada (140 – 190°C), la concentración de  $\beta$ -ciclodextrina (5 – 19%) y el flujo de alimentación (4 – 14 mL/min) para betacyanins de amaranto encapsuladas. Los autores evaluaron diferentes características relacionadas con el secado (velocidad de secado, tamaño de partícula y tiempo de secado). Observando un efecto positivo del agente encapsulante y la temperatura de entrada en el tamaño de partícula para ambos agentes. Para el resto de las características, no observaron diferencias significativas. Das, Goud & Das (2019) usaron este diseño experimental para la optimización de la encapsulación de antocianinas de arroz morado (*Oryza sativa*) usando almidón de arroz modificado como agente encapsulante. Ellos variaron la concentración de encapsulante (5 – 10%), la presión (2.76 – 5.52 MPa) y la temperatura de entrada (140 – 180°C), con la finalidad de maximizar las diferentes respuestas (eficiencia de encapsulación, contenido de antocianinas, densidad, y actividad de agua ( $a_w$ )). Después de la optimización, los autores observaron para obtener una eficiencia y concentración de antocianinas máxima con  $a_w$  bajas, las condiciones óptimas

de proceso eran 6.01% de almidón, 4.96 MPa y 168.78°C. Por otro lado, Santana et al. (2013) estudiaron la encapsulación de carotenoides de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) usando GA como agente encapsulante, variando la temperatura de entrada (140 – 200°C), la concentración de surfactante (0 – 5% Tween 80) y la concentración de GA (10 – 20%). Las variables dependientes o respuestas fueron las características fisicoquímicas (humedad, higroscopicidad, rendimiento y  $a_w$ ), características físicas (densidad aparente y compacta, porosidad, tamaño de partícula y la morfología), el contenido de carotenoides y vitamina C. Las variables no tuvieron influencia en otras características diferentes al contenido de carotenoides, donde ninguna de las variables fue significativa. Sin embargo, el proceso se optimizó para obtener el mayor contenido de carotenoides y vitamina C, el menor contenido de agua y la menor higroscopicidad ( $T_{in}$ , 152 °C), surfactante 1% y GA 18%). Otros trabajos se han enfocado en la optimización del contenido de antocianinas microencapsuladas variando la temperatura de entrada y el flujo de alimentación (Valente et al., 2019), o la encapsulación de antocianinas de blackberry variando la temperatura de entrada (100-150°C), y la variación en la proporción pulpa:sólidos (1:0.5 – 1:2) (Ferreira Nogueira et al., 2018; Nogueira et al., 2020).

### ***Diseño Box-Behnken.***

Se aplica para evaluar tres o más factores con tres niveles. Se requieren  $2k(k-1)+\epsilon$  experimentos donde  $k$  es el número de factores y  $\epsilon$  el número de puntos centrales. La eficiencia del modelo depende del número de coeficientes estimados (Ec. 6) (Naranderan et al., 2019). Bazaria & Kumar (2016) lo utilizaron para evaluar el efecto de tres variables independientes: temperatura de entrada de aire (160, 170 and 180 °C), flujo de alimentación

(400, 500 y 600 mL/h) y la concentración de concentrado de proteína de suero (WPC) (5, 10 y 15%) sobre ocho diferentes respuestas, entre ellas el contenido de betalaínas de jugo de betabel (*Beta vulgaris*) en la microcápsula. Los autores encontraron que el incremento de la temperatura disminuye el contenido de betalaínas; éstas, junto con la concentración, fueron las variables significativas.

### ***Diseño de mezclas simplex-centroide o simplex-lattice***

Este tipo de diseño, evaluando únicamente las variables que se pueden mezclar. Se utiliza para optimizar la composición de una mezcla en función de la proporción de sus componentes. La mezcla consiste en  $k$  número de componentes separados equitativamente entre 0 y 1 (Ec. 8).

$$x_i = 0, \frac{1}{m}, \frac{2}{m}, \frac{m-1}{m}, 1 \quad i = 1, 2, 3, \dots, k \quad (8)$$

Para el ajuste de una función de primer grado, solo son necesarios los niveles 0 y 1. Para un modelo de segundo grado, son necesarios los niveles 0, 1/2 y 1 y para un modelo cúbico se necesitan los niveles 0, 1/3, 2/3, 1. Este diseño toma en cuenta los componentes puros, combinaciones binarias (simplex-lattice) y ternarias (solo en simplex-centroid), por lo que su uso es laborioso, ya que requiere un alto número de experimentos. En el caso del diseño simplex centroide, es necesario por lo menos la inclusión de una mezcla ternaria.

Debido a que este diseño describe el comportamiento en proporción de sus componentes, es necesario considerar el modelo matemático como la suma de cada uno de los componentes, por lo que, tomando la siguiente expresión:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (9)$$

haciendo las siguientes consideraciones  $x_1 + x_2 = 1$ ,  $b_0 = 1 b_0$ ,  $x_{11} = x_1 (1 - x_2)$  y  $x_{22} = x_2 (1 - x_1)$ , se obtiene la siguiente expresión:

$$y = (x_1 + x_2)b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1(1 - x_2) + b_{22}x_2(1 - x_1) + b_{12}x_1x_2 \quad (10)$$

y reordenando se obtiene:

$$y = (b_0 + b_1 + b_{11})x_1 + (b_0 + b_2 + b_{22})x_2 + (b_{12} + b_{11} + b_{22})x_1x_2 \quad (11)$$

$$y = b'_1x_1 + b'_2x_2 + b'_{12}x_1x_2 + \dots + b'_ix_i + b'_{ij}x_ix_j \quad (12)$$

Así, es posible obtener modelos lineales, cuadráticos, cúbicos completos o cúbicos especiales dependiendo del número de puntos experimentales (Bezerra et al., 2020).

El diseño simplex-lattice ha sido utilizado por Santana et al. (2016) en la encapsulación de antocianinas de pulpa de juçara (*Euterpe edulis*) utilizando GA, almidón modificado y aislado de proteína de suero de leche o aislado de proteína de soya. Los autores observaron que las mezclas ternarias mostraban mejor rendimiento, solubilidad, eficiencia de encapsulación y retención de antocianinas. Mahdavee Khazaei et al. (2014) encapsularon antocianinas de pétalos de azafrán con GA y dos tipos de MDX con diferentes equivalentes de dextrosa (16-20DE y 4-7DE). Una de las variables de respuesta fue el color. Los autores

observaron que, al disminuir la cantidad de GA, se observaron diferencias de color menores en los polvos. Por otro lado, el diseño *simplex-centroide* se ha usado en la encapsulación de antocianinas de granada (*Punica granatum*) con Capsul (marca comercial), MDX y GA. La mayor retención de pigmentos se observó con la mezcla binaria 1:1 GA:Capsul (Santiago et al., 2016). Souza et al. (2018) encapsularon licopeno de jitomate con MDX, WPI y almidón modificado. En este caso, la MDX y el almidón modificado solos y la mezcla binaria (1:1) de ambos mostraron la mayor cantidad de licopeno y la mayor actividad antioxidante (Souza et al., 2018).

### ***Taguchi design***

El modelo Taguchi permite el estudio de múltiples factores con varios niveles con una alta precisión. Pal & Bhattacharjee (2018) utilizaron este modelo para el diseño de experimentos en la encapsulación de luteína de flores de caléndula (*Tagetes erecta* L.) para optimizar la máxima cantidad de luteína encapsulada. Se establecieron las siguientes variables: concentración de agente encapsulante (30, 35, 40%), mezclas de MDX:GA (50:50, 60:40, 70:30), temperatura de entrada (150, 170, 190°C) y velocidad del flujo de aire (473, 601, 742 L/h). Los autores observaron que las mejores condiciones para la encapsulación fueron 30% de agente encapsulante, 60:40 de MDX:GA, alimentación de 0.90 mL/min, temperatura de entrada de 170°C, flujo de aire de 742 L/h y presión de aspersión de 60 mbar, obteniendo hasta un 78.32% de luteína encapsulada.

### *Usos*

Aun cuando la encapsulación mediante secado por aspersión permite la obtención de pigmentos altamente estables, muy pocos artículos reportan el uso de los pigmentos en matrices alimenticias. Algunos de estos estudios se enlistan en la Tabla 3. Los pigmentos han utilizado principalmente para dar color a bebidas o para jugos simulados (Hernández-Martínez et al., 2017; Kaimainen et al., 2015; Lee, Eun, & Hwang, 2016), bebidas isotónicas (Tupuna-Yerovi et al., 2020), bebidas fermentadas y sin fermentar a base de leche (Espinosa Alvarez et al., 2019; Lima et al., 2019), helados (Durmaz et al., 2020; Tatar Turan et al., 2015), yogurt (Fernández-López et al., 2018; Hernández-Martínez et al., 2017; Vargas-Campos et al., 2018), productos de panadería (Ab Rashid et al., 2020; Papillo et al., 2018; Rocha et al., 2012; Roriz et al., 2020; Tatar Turan et al., 2015), y chocolate, chiclosos, chicle, y caramelo macizo (Augusto, Vissotto, & Bolini, 2019; da Silva et al., 2016; Palabiyik et al., 2018; Shaaruddin et al., 2019), entre otros.

Tatar-Turan *et al.* (2015) y Papillo *et al.* (2018) encapsularon antocianinas de mora azul (*V. corymbosum*) con goma guar y de antocianinas de arroz negro (*Oryza sativa* L. var. Artemide) con GA, respectivamente. En ambas investigaciones se incorporaron los pigmentos microencapsulados en formulaciones para pan. Observaron que la microencapsulación protegía a los pigmentos de la degradación térmica, sin un cambio aparente en el color. Así, el resultado fue favorable ya que a altas temperaturas los compuesto polifenoles, como las antocianinas, forman *O*-quinonas de tonalidades cafés (Sant'Anna et al., 2013). Por otro lado, el uso de carotenoides también ha sido evaluado en pan. En licopeno encapsulado con almidón modificado, la encapsulación protegió a los pigmentos durante el

horneado del pan (Rocha et al., 2012). La incorporación de antocianinas de flores de *Clitoria ternatea* impidió el crecimiento de microorganismos, actuando como un bio-preservador para productos horneados (Ab Rashid et al., 2020).

La adición de pigmentos encapsulados permite la obtención de colores similares a los de productos comerciales. Por ejemplo, la adición de betaxantinas de tuna de pulpa amarilla (*Opuntia* spp.) produce en un yogurt con color similar al limón (Fernández-López et al., 2018). Las betalaínas de garambullo (*M. geometrizans*) producen un color similar al del yogurt de fresa (Hernández-Martínez et al., 2017). Las antocianinas de col morada (*B. oleracea* L. spp. *Capitata* f. *rubra*) adicionadas a bebidas fermentadas a base de leche produjeron coloraciones similares a los de yogurt de fresa comercial (color rosa pálido) (Espinosa Alvarez et al., 2019). Algunos autores sugieren que el color varía con el tiempo de almacenamiento (Vargas-Campos et al., 2018). Sin embargo, éste puede ser más estable cuando el producto es almacenado en condiciones de oscuridad (Fernández-López et al., 2018). Por otro lado, la baja temperatura es un factor fundamental en la estabilidad de los pigmentos adicionados a algunos productos (Fernández-López et al., 2018) como en los helados.

Otro uso de los pigmentos microencapsulados es en golosinas. Se han usado microalgas (*Nannochloropsis oculata*; *Isochrysis galbana*) en las formulaciones para la manufactura de chicles (Palabiyik et al., 2018) y caramelos masticables. Los autores resaltan que la incorporación de los pigmentos microencapsulados incrementó el color, especialmente en  $-a^*$ , haciendo más agradables los productos. Por otro lado, carotenoides de zanahoria naranja (*Daucus carota*) han sido incorporados en caramelos macizos; las características



físicas de la matriz alimenticia minimizaron el contacto con el ambiente y mantuvieron mejor los pigmentos adicionados (Shaaruddin *et al.*, 2019). da Silva et al. (2016) reportan que la mayor degradación de antocianinas de açai se observó durante la elaboración caramelos masticables, no durante el almacenamiento, el color fue estable hasta por seis meses.

Se han reportados otros usos de algunos pigmentos naturales encapsulados. (Garrido Makinistian et al., 2020) sugieren que se pueden consumir directamente como tabletas, ya que los polvos obtenidos a partir de antocianinas de bayas de maqui (*Aristotelia chilensis*) presentaron buenas propiedades de compactibilidad y alta cantidad de compuestos benéficos. Los autores sugieren también que los pigmentos obtenidos tienen potencial en aplicaciones cosméticas, lo cual ha sido evaluado por Azmin, Jaine, & Nor (2020). Ellos elaboraron un bálsamo labial con betalaínas de betabel, el producto final presentó una alta estabilidad y buena aceptabilidad sensorial. Por otro lado, en la incorporación de pigmentos de blackberry (*Rubus fruticosus*) en películas comestibles, con alta capacidad antioxidante, se observó una liberación controlada y degradación de la película, ha hecho posible su aplicación en empaques para alimentos (Ferreira Nogueira et al., 2019).

**Tabla 3.** Aplicación de pigmentos microencapsulados.

<b>Material</b>	<b>Applications</b>	<b>Reference</b>
Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	Ice cream and cake	Tatar Turan et al., 2015
<i>Clitoria ternatea</i> flowers	Muffins	Ab Rashid et al., 2020
Açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart.)	Chocolate	Augusto et al., 2019
Jaboticaba residue (peel and seeds)	Sausages	Baldin et al., 2016
Açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart.)	Chewy candies	da Silva et al 2016
Blackberry ( <i>Rubus fruticosus</i> )	Edible films (direct and sparkling addition)	Ferreira Nogueira et al., 2019
Juçara pulp ( <i>Euterpe edulis</i> M.)	Fermented and unfermented dairy beverage	Lima et al., 2019
Purple cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> L. spp. <i>Capitata</i> f. <i>Rubra</i> ) leaves	Fermented milk drinks	Espinoza Alvarez et al., 2019
Maqui berry ( <i>Aristotelia chilensis</i> )	Compact tablets	Garrido Makinistian et al., 2020
Arroz negro ( <i>Oryza sativa</i> L)	Biscuits	Papillo et al., 2018
Juçara ( <i>Euterpe edulis</i> Marius)	Gelatins	Bernardes et al., 2019
Pitaya ( <i>Stenocereus prunosus</i> )	Yogurt	Vargas-Campos et al., 2018
<i>Gomphera globosa</i> L. flowers	Colored cookies	Roriz et al., 2020
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Model juice	Kaimainen et al., 2015
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Beverage, yogurt	Hernández-Martínez et al., 2017
Cactus pear ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ) (yellow pulp)	Yogurt and soft-drink	Fernández-López et al., 2018
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Lip balm	Azmin et al., 2020
Mandarin ( <i>Citrus unshiu</i> )	Mandarin beverage	Lee et al., 2016
<i>Nannochloropsis oculata</i> and <i>Isochrysis galbana</i>	Chewy gum	Palabiyik et al., 2017
<i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Diacronema</i> <i>vlkianum</i> and <i>Porphyridium cruentum</i>	Ice cream	Durmaz et al., 2020
Carrot ( <i>Daucus carota</i> )	Hard candy	Shaaruddin et al., 2019
Annatto	Synthetic tangerine flavor isotonic drink	Tupuna-Yerovi et al., 2020
Commercial lycopene	Cake	Rocha et al., 2012

## Observaciones finales

El secado por aspersión ha probado ser eficiente en la obtención de compuestos bioactivos microencapsulados provenientes de fuentes naturales que contienen diferentes tipos de pigmentos: carotenoides, antocianinas, betalaínas y clorofilas. Gracias a la microencapsulación, se obtienen pigmentos en polvo que pueden ser fácilmente incorporados en matrices alimenticias, manteniendo su estabilidad y propiedades físicas por más tiempo. Sin embargo, es indispensable el estudio del efecto del procesamiento sobre los pigmentos incorporados, así como su adición en distintas matrices alimenticias. Aun cuando se han probado diferentes polímeros para la encapsulación de pigmentos, la maltodextrina ha sido y continúa siendo la más utilizada. Futuros trabajos deben estar enfocados en la explotación de otras fuentes de polímeros para la encapsulación y, al mismo tiempo, aprovechar los residuos agroindustriales para la obtención de pigmentos naturales, así como la ampliar la gama de colores que éstos podrían mostrar.

Apoyos El autor Jiménez-González recibió apoyo para sus estudios por la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

## Declaraciones

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

## Referencias

Ab Rashid, S., Tong, W. Y., Leong, C. R., Ghazali, N. M. A., Taher, M. A., Ahmad, N., Tan, W-N., & Teo, S. H. (2020). Anthocyanin microcapsule from *Clitoria ternatea*:

- potential bio-preservative and blue colorant for baked food products. *Arabian Journal for Science and Engineering*. doi: 10.1007/s13369-020-04716-y
- Abdullah, R., Lee, P. M., & Lee, K. H. (2010). Multiple color and pH stability of floral anthocyanin extract: *Clitoria ternatea*. 2010 *International Conference on Science and Social Research (CSSR 2010)*, 254–258. Kuala Lumpur, Malaysia: IEEE. doi: 10.1109/CSSR.2010.5773778
- Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. (2017). Microencapsulation of saffron anthocyanins using  $\beta$  glucan and  $\beta$  cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 435–442. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, 181, 59–66. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003
- Antigo, J. L. D., Bergamasco, R. de C., & Madrona, G. S. (2017). Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Science and Technology*, 38(1), 72–77. doi: 10.1590/1678-457x.34316
- Antigo, J. L. D., Stafussa, A. P., de Bergamasco, R. C., & Madrona, G. S. (2020). Chia seed mucilage as a potential encapsulating agent of a natural food dye. *Journal of Food Engineering*, 285, 110101. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110101
- Archaina, D., Vasile, F., Jiménez-Guzmán, J., Alamilla-Beltrán, L., & Schebor, C. (2019). Physical and functional properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract spray dried with maltodextrin-gum arabic mixtures. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), 1-9. doi: 10.1111/jfpp.14065
- Arévalo-Villena, M., Fernández, M., López, J., & Briones, A. (2011). Pectinases yeast production using grape skin as carbon source. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2(02), 89–96. doi: 10.4236/abb.2011.22014
- Augusto, P., Vissotto, F., & Bolini, H. (2019). Sensory impact of three different conching times on white chocolates with spray-dried and freeze-dried açai (*Euterpe oleracea*). *Food Science and Technology International*, 25(6), 480–490. doi: 10.1177/1082013219833526
- Azmin, S. N. H. M., Jaine, N. I. M., & Nor, M. S. M. (2020). Physicochemical and sensory evaluations of moisturising lip balm using natural pigment from *Beta vulgaris*. *Cogent Engineering*, 7(1), 1788297. doi: 10.1080/23311916.2020.1788297
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016). Microencapsulation of Oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications: Encapsulation of marine, vegetable, essential oils....

- Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 143–182. doi: 10.1111/1541-4337.12179
- Baldin, J. C., Michelin, E. C., Polizer, Y. J., Rodrigues, I., de Godoy, S. H. S., Fregonesi, R. P., Pires, M. A., Carvalho, L. T., Fávoro-Trindade, C. S., de Lima, C. G., Fernandes, A. M., & Trindade, M. A. (2016). Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. *Meat Science*, 118, 15–21. doi: 10.1016/j.meatsci.2016.03.016
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, 218, 305–312. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.078
- Bazaria, B., & Kumar, P. (2016). Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate. *Food Bioscience*, 14, 21–27. doi: 10.1016/j.fbio.2015.11.002
- Bazaria, B., & Kumar, P. (2017). Effect of dextrose equivalency of maltodextrin together with Arabic gum on properties of encapsulated beetroot juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1), 156–163. doi: 10.1007/s11694-016-9382-4
- Beacham, I. R. (1979). Periplasmic enzymes in gram-negative bacteria. *International Journal of Biochemistry*, 10(11), 877–883. doi: 10.1016/0020-711X(79)90117-4
- Bernardes, A. L., Moreira, J. A., Tostes, M. das G. V., Costa, N. M. B., Silva, P. I., & Costa, A. G. V. (2019). In vitro bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system. *LWT*, 102, 173–180. doi: 10.1016/j.lwt.2018.12.009
- Bernstein, A., & Noreña, C. P. Z. (2015). Encapsulation of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *Rubra*) anthocyanins by spray drying using different encapsulating agents. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(6), 944–952. doi: 10.1590/S1516-89132015060226
- Bezerra, M. A., Lemos, V. A., Novaes, C. G., de Jesus, R. M., Filho, H. R. S., Araújo, S. A., & Alves, J. P. S. (2020). Application of mixture design in analytical chemistry. *Microchemical Journal*, 152, 104336. doi: 10.1016/j.microc.2019.104336
- Bhandari, B.R., Senoussi, A., Dumoulin, E. D., & Lebert, A. (1993). Spray Drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11(5), 1081–1092. doi: 10.1080/07373939308916884
- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15(2), 671–684. doi: 10.1080/07373939708917253
- Bicudo, M. O. P., J6, J., Oliveira, G. A. de, Chaimsohn, F. P., Sierakowski, M. R., Freitas, R. A. de, & Ribani, R. H. (2015). Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.)

- pulp by spray drying using different carriers and drying temperatures. *Drying Technology*, 33(2), 153–161. doi: 10.1080/07373937.2014.937872
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M. J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., & Watzl, B. (2012). Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, 51(6), 637–663. doi: 10.1007/s00394-012-0380-y
- Büchi. (n.d.). Soluciones de Evaporación Rotatoria. Retrieved October 3, 2020, from Büchi website:  
[https://static1.buchi.com/sites/default/files/downloads/Laboratory\\_Evaporation\\_Solutions\\_es.pdf?2729609b7bf603de51174fbdd52d09477b8631d8](https://static1.buchi.com/sites/default/files/downloads/Laboratory_Evaporation_Solutions_es.pdf?2729609b7bf603de51174fbdd52d09477b8631d8)
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248–1252. doi: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x
- Čakarević, J., Šeregelj, V., Tumbas Šaponjac, V., Četković, G., Čanadanović Brunet, J., Popović, S., Kostić, M. H., & Popović, L. (2020). Encapsulation of beetroot juice: A study on the application of pumpkin oil cake protein as new carrier agent. *Journal of Microencapsulation*, 37(2), 121–133. doi: 10.1080/02652048.2019.1705408
- Çalışkan Koç, G., & Nur Dirim, S. (2017). Spray Drying of Spinach Juice: Characterization, Chemical Composition, and Storage: Spray dried spinach powder.... *Journal of Food Science*, 82(12), 2873–2884. doi: 10.1111/1750-3841.13970
- Carmo, E. L., Teodoro, R. A. R., Campelo, P. H., Figueiredo, J. de A., Botrel, D. A., Fernandes, R. V. de B., & Borges, S. V. (2019). The use of different temperatures and inulin:whey protein isolate ratios in the spray drying of beetroot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10). doi: 10.1111/jfpp.14113
- Castro-Enríquez, D. D., Montaña-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juaréz-Onofre, J. E., Carvajal-Millan, E., BurrueI-Ibarra, S. E., Tapia-Hernández, J. A., Barreras-Urbina, C. G., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Stabilization of betalains by encapsulation—A review. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1587-1600. doi: 10.1007/s13197-019-04120-x
- Chang, L. S., Tan, Y. L., & Pui, L. P. (2020). Production of spray-dried enzyme-liquefied papaya (*Carica papaya* L.) powder. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2019181. doi: 10.1590/1981-6723.18119
- Chaparro, L., Dhuique-Mayer, C., Castillo, S., Vaillant, F., Servent, A., & Dornier, M. (2016). Concentration and purification of lycopene from watermelon juice by integrated microfiltration-based processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 153–160. doi: 10.1016/j.ifset.2016.08.001
- Chong, P. H., Yusof, Y. A., Aziz, M. G., Nazli, N. M., Chin, N. L., & Muhammad, S. K. S. (2014). Effects of Spray Drying Conditions of Microencapsulation of *Amaranthus*

- gangeticus* Extract on Drying Behaviour. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 33–42. doi: 10.1016/j.aaspro.2014.11.006
- Cissé, M., Vaillant, F., Pallet, D., & Dornier, M. (2011). Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, 44(9), 2607–2614. doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.046
- Clydesdale, F. M. (1993). Color as a factor in food choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(1), 83–101. doi: 10.1080/10408399309527614
- Coultate, T., & Blackburn, R. S. (2018). Food colorants: Their past, present and future. *Coloration Technology*, 134(3), 165–186. doi: 10.1111/cote.12334
- Czyżowska, A., Klewicka, E., & Libudzisz, Z. (2006). The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants. *European Food Research and Technology*, 223(1), 110–116. doi: 10.1007/s00217-005-0159-y
- da Silva, L. B., Annetta, F. E., Alves, A. B., Queiroz, M. B., Fadini, A. L., da Silva, M. G., & Efraim, P. (2016). Effect of differently processed açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the retention of phenolics and anthocyanins in chewy candies. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(12), 2603–2612. doi: 10.1111/ijfs.13245
- Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., & Madani, K. (2014). *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61, 31–40. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.06.035
- Das, A. B., Goud, V. V., & Das, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin extract from purple rice bran using modified rice starch and its effect on rice dough rheology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 573–581. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.247
- Daza, L. D., Fujita, A., Fávaro-Trindade, C. S., Rodrigues-Ract, J. N., Granato, D., & Genovese, M. I. (2016). Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 97, 20–29. doi: 10.1016/j.fbp.2015.10.001
- de Boer, F. Y., Imhof, A., & Velikov, K. P. (2019). Encapsulation of colorants by natural polymers for food applications. *Coloration Technology*, 135(3), 183–194. doi: 10.1111/cote.12393
- Delia, S.-C., Chávez, G. M., León-Martínez Frank, M., Araceli, S.-G. P., Irais, A.-L., & Franco, A.-A. (2019). Spray drying microencapsulation of betalain rich extracts from *Escontria chiotilla* and *Stenocereus queretaroensis* fruits using cactus mucilage. *Food Chemistry*, 272, 715–722. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.069

- DuBOSE, C. N., Cardello, A. V., & Maller, O. (1980). Effects of colorants and flavorants on identification, perceived flavor intensity, and hedonic quality of fruit-flavored beverages and cake. *Journal of Food Science*, *45*(5), 1393–1399. doi: 10.1111/j.1365-2621.1980.tb06562.x
- Durmaz, Y., Kilicli, M., Toker, O. S., Konar, N., Palabiyik, I., & Tamtürk, F. (2020). Using spray-dried microalgae in ice cream formulation as a natural colorant: Effect on physicochemical and functional properties. *Algal Research*, *47*, 101811. doi: 10.1016/j.algal.2020.101811
- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, *80*(3), 805–812. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.07.009
- Espinosa Alvarez, C. S., Contreras, J. L., Rodríguez, D. E., Rondón, D. J., Muñoz, W. B., & Mezquita, P. C. (2019). Application of microencapsulated anthocyanin extracted from purple cabbage in fermented milk drinks. *Acta Agronómica*, *68*(2), 134–141. doi: 10.15446/acag.v68n2.79078
- Femat-Castañeda, C., Chávez-Rodríguez, A., Chávez-Rodríguez, A. M., Flores-Martínez, H., Farías-Cervantes, V. S., & Andrade-González, I. (2019). Effect of agave fructans and maltodextrin on Zn<sup>2+</sup> Chlorophyll microencapsulation by spray drying. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–9. doi: 10.1155/2019/6312584
- Fernández-González, M., Úbeda, J. F., Vasudevan, T. G., Otero, R. R. C., & Briones, A. I. (2004). Evaluation of polygalacturonase activity in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains. *FEMS Microbiology Letters*, *237*(2), 261–266. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09705.x
- Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Angosto, J. M., & Obón, J. M. (2018). Betaxanthin-rich extract from cactus pear fruits as yellow water-soluble colorant with potential application in foods. *Plant Foods for Human Nutrition*, *73*(2), 146–153. doi: 10.1007/s11130-018-0664-3
- Ferrari, C. C., Marconi Germer, S. P., Alvim, I. D., & de Aguirre, J. M. (2013). Storage stability of spray-dried blackberry powder produced with maltodextrin or gum arabic. *Drying Technology*, *31*(4), 470–478. doi: 10.1080/07373937.2012.742103
- Ferreira Nogueira, G., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2019). Incorporation of spray dried and freeze dried blackberry particles in edible films: Morphology, stability to pH, sterilization and biodegradation. *Food Packaging and Shelf Life*, *20*, 100313. doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100313
- Ferreira Nogueira, G., Pereira Martin, L. G., Matta Fakhouri, F., & Augustus de Oliveira, R. (2018). Microencapsulation of blackberry pulp with arrowroot starch and gum arabic mixture by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, *35*(5), 482–493. doi: 10.1080/02652048.2018.1538264



- Ferreira, S., Malacrida, C. R., & Nicoletti, V. R. (2019). Influence of emulsification methods and spray drying parameters on the microencapsulation of turmeric oleoresin. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(7), 491-500. doi: 10.9755/ejfa.2019.v31.i7.1968
- Freitas-Dörr, B. C., Machado, C. O., Pinheiro, A. C., Fernandes, A. B., Dörr, F. A., Pinto, E., Lopes-Ferreira, M., Abdellah, M., Sá, J., Russo, L. C., Forti, F. L., Gonçalves, L. C. P., & Bastos, E. L. (2020). A metal-free blue chromophore derived from plant pigments. *Science Advances*, 6(14), eaaz0421. doi: 10.1126/sciadv.aaz0421
- Gagneten, M., Corfield, R., Mattson, M. G., Sozzi, A., Leiva, G., Salvatori, D., & Schebor, C. (2019). Spray-dried powders from berries extracts obtained upon several processing steps to improve the bioactive components content. *Powder Technology*, 342, 1008–1015. doi: 10.1016/j.powtec.2018.09.048
- Garavand, F., Rahae, S., Vahedikia, N., & Jafari, S. M. (2019). Different techniques for extraction and micro/nanoencapsulation of saffron bioactive ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 89, 26–44. doi: 10.1016/j.tifs.2019.05.005
- García, J. M., Giuffrida, D., Dugo, P., Mondello, L., & Osorio, C. (2018). Development and characterisation of carotenoid-rich microencapsulates from tropical fruit by-products and yellow tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.). *Powder Technology*, 339, 702–709. doi: 10.1016/j.powtec.2018.08.061
- García-Lucas, K. A., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., Campanella, O. H., Patel, B. K., & Barriada-Bernal, L. G. (2017). Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* pitaya juice powder: García-Lucas et al. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12470. doi: 10.1111/jfpe.12470
- Garrido Makinistian, F., Gallo, L., Sette, P., Salvatori, D., & Bucalá, V. (2020). Nutraceutical tablets from maqui berry (*Aristotelia chilensis*) spray-dried powders with high antioxidant levels. *Drying Technology*, 38(9), 1231–1242. doi: 10.1080/07373937.2019.1629589
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121. doi: 10.1016/j.foodres.2007.07.004
- Gilbert, A. N., Fridlund, A. J., & Lucchina, L. A. (2016). The color of emotion: A metric for implicit color associations. *Food Quality and Preference*, 52, 203–210. doi: 10.1016/j.foodqual.2016.04.007
- Gilbert, A. N., Martin, R., & Kemp, S. E. (1996). Cross-modal correspondence between vision and olfaction: The color of smells. *The American Journal of Psychology*, 109(3), 335. doi: 10.2307/1423010
- Gomes, W. F., França, F. R. M., Denadai, M., Andrade, J. K. S., Oliveira, E. M. da S., de Brito, E. S., Rodrigues, S., & Narain, N. (2018). Effect of freeze- and spray-drying on physico-chemical characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of

- papaya pulp. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 2095–2102. doi: 10.1007/s13197-018-3124-z
- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2012). A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. *Drying Technology*, 30(6), 641–652. doi: 10.1080/07373937.2012.655871
- Gunaraj, V., & Murugan, N. (1999). Application of response surface methodology for predicting weld bead quality in submerged arc welding of pipes. *Journal of Materials Processing Technology*, 88(1–3), 266–275. doi: 10.1016/S0924-0136(98)00405-1
- Hagerthey, S. E., Louda, J. W., & Mongkronsri, P. (2006). Evaluation of pigment extraction methods and a recommended protocol for periphyton chlorophyll *a* determination and chemotaxonomic assessment. *Journal of Phycology*, 42(5), 1125–1136. doi: 10.1111/j.1529-8817.2006.00257.x
- He, F. J., Nowson, C. A., Lucas, M., & MacGregor, G. A. (2007). Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: Meta-analysis of cohort studies. *Journal of Human Hypertension*, 21(9), 717–728. doi: 10.1038/sj.jhh.1002212
- Hernández-Martínez, A. R., Torres, D., Molina, G. A., Esparza, R., Quintanilla, F., Martínez-Bustos, F., & Estevez, M. (2017). Stability comparison between microencapsulated red-glycosidic pigments and commercial FD&C Red 40 dye for food coloring. *Journal of Materials Science*, 52(9), 5014–5026. doi: 10.1007/s10853-016-0739-1
- Islam, M. Z., Kitamura, Y., Yamano, Y., & Kitamura, M. (2016). Effect of vacuum spray drying on the physicochemical properties, water sorption and glass transition phenomenon of orange juice powder. *Journal of Food Engineering*, 169, 131–140. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.08.024
- Jaeschke, D. P., Rech, R., Marczak, L. D. F., & Mercali, G. D. (2017). Ultrasound as an alternative technology to extract carotenoids and lipids from *Heterochlorella luteoviridis*. *Bioresource Technology*, 224, 753–757. doi: 10.1016/j.biortech.2016.11.107
- Janiszewska, E., Jedlińska, A., & Witrowa-Rajchert, D. (2015). Effect of homogenization parameters on selected physical properties of lemon aroma powder. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 405–413. doi: 10.1016/j.fbp.2014.05.006
- Janiszewska-Turak, E. (2017). Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. *Food Research International*, 99, 891–901. doi: 10.1016/j.foodres.2017.02.001
- Jayani, R. S., Saxena, S., & Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, 40(9), 2931–2944. doi: 10.1016/j.procbio.2005.03.026
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of

- spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889–894. doi: 10.1016/j.jfca.2011.04.012
- Jimenez-Gonzalez, O., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Ochoa-Velasco, C. E., Luna Vital, D., & Luna-Guevara, M. L. (2018). A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit pericarp. *NFS Journal*, 13, 1–9. doi: 10.1016/j.nfs.2018.08.001
- Kaimainen, M., Laaksonen, O., Järvenpää, E., Sandell, M., & Huopalahti, R. (2015). Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. *Food Chemistry*, 187, 398–406. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.04.064
- Kang, Y.-R., Lee, Y.-K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337–346. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.063
- Kemp, S. E., & Gilbert, A. N. (1997). Odor intensity and color lightness are correlated sensory dimensions. *The American Journal of Psychology*, 110(1), 35. doi: 10.2307/1423699
- Khaksar, G., Assatarakul, K., & Sirikantaramas, S. (2019). Effect of cold-pressed and normal centrifugal juicing on quality attributes of fresh juices: Do cold-pressed juices harbor a superior nutritional quality and antioxidant capacity? *Heliyon*, 5(6), e01917. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01917
- Khonkarn, R., Okonogi, S., Ampasavate, C., & Anuchapreeda, S. (2010). Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2122–2129. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.014
- Kuhn, F., Azevedo, E. S., & Noreña, C. P. Z. (2020). Behavior of inulin, polydextrose, and egg albumin as carriers of *Bougainvillea glabra* bracts extract: Rheological performance and powder characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*. doi: 10.1111/jfpp.14834
- Kulczyński, B., Gramza-Michałowska, A., Kobus-Cisowska, J., & Kmiecik, D. (2017). The role of carotenoids in the prevention and treatment of cardiovascular disease – Current state of knowledge. *Journal of Functional Foods*, 38, 45–65. doi: 10.1016/j.jff.2017.09.001
- Kumar, S. S., & Giridhar, P. (2017). Stabilization of bioactive betalain pigment from fruits of *Basella rubra* L. through maltodextrin encapsulation. *Madridge Journal of Food Technology*, 2(1), 73–77. doi: 10.18689/mjft-1000111
- Labrotovap. (2019). What is a Rotary evaporator? Retrieved October 3, 2020, from Lab Instrument Manufacturer website: <https://www.labrotovap.com/what-is-a-rotary-evaporator/>

- Lee, C.-G., Ahmed, M., Jiang, G.-H., & Eun, J.-B. (2017). Color, bioactive compounds and morphological characteristics of encapsulated Asian pear juice powder during spray drying. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2717–2727. doi: 10.1007/s13197-017-2708-3
- Lee, K.-C., Eun, J.-B., & Hwang, S. J. (2016). Physicochemical properties and sensory evaluation of mandarin (*Citrus unshiu*) beverage powder spray-dried at different inlet air temperatures with different amounts of a mixture of maltodextrin and corn syrup. *Food Science and Biotechnology*, 25(5), 1345–1351. doi: 10.1007/s10068-016-0211-7
- Leyva-Jimenez, F. J., Lozano-Sanchez, J., Borrás-Linares, I., Cadiz-Gurrea, M. de la L., & Mahmoodi-Khaledi, E. (2019). Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria. *LWT*, 101, 236–245. doi: 10.1016/j.lwt.2018.11.015
- Lima, E. M. F., Madalão, M. C. M., dos Santos, W. C., Bernardes, P. C., Saraiva, S. H., & Silva, P. I. (2019). Spray-dried microcapsules of anthocyanin-rich extracts from *Euterpe edulis* M. as an alternative for maintaining color and bioactive compounds in dairy beverages. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4147–4157. doi: 10.1007/s13197-019-03885-5
- Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E. J., & Wang, S. (2015). Kinetics of food quality changes during thermal processing: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 343–358. doi: 10.1007/s11947-014-1398-3
- Looi, Y. F., Ong, S. P., Julkifle, A., & Alias, M. S. (2019). Effects of pretreatment and spray drying on the physicochemical properties and probiotics viability of Moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaf juice powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(4), e13915. doi: 10.1111/jfpp.13915
- Loos, M. (2015). Processing of Polymer Matrix Composites Containing CNTs. In *Carbon Nanotube Reinforced Composites* (pp. 171–188). Elsevier. doi: 10.1016/B978-1-4557-3195-4.00006-0
- López-Franco, Y., Higuera-Ciapara, I., Goycoolea, F. M., & Wang, W. (2009). Other exudates: Tragacanth, karaya, mesquite gum and larchwood arabinogalactan. In *Handbook of Hydrocolloids* (pp. 495–534). Elsevier. doi: 10.1533/9781845695873.495
- Macias-Sanchez, M., Mantell, C., Rodriguez, M., Martinez de la Ossa, E., Lubian, L., & Montero, O. (2009). Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. *Talanta*, 77(3), 948–952. doi: 10.1016/j.talanta.2008.07.032
- Mäki-Arvela, P., Hachemi, I., & Murzin, D. Yu. (2014). Comparative study of the extraction methods for recovery of carotenoids from algae: Extraction kinetics and effect of

- different extraction parameters: Extraction of carotenoids from algae. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(11), 1607–1626. doi: 10.1002/jctb.4461
- Martins, D. R. dos S., Sanjinez-Argandoña, E. J., Ortega, N. de F., Garcia, V. A. dos S., Oliveira, V. S., & Cardoso, C. A. L. (2020). Production and characterization of *Hibiscus sabdariffa* by spray dryer using different sprinkler nozzles and carrier agents. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7). doi: 10.1111/jfpp.14493
- Martins, R. M., Siqueira, S., Machado, M. O., & Freitas, L. A. P. (2013). The effect of homogenization method on the properties of carbamazepine microparticles prepared by spray congealing. *Journal of Microencapsulation*, 30(7), 692–700. doi: 10.3109/02652048.2013.778906
- Miguel, M. (2018). Betalains in Some Species of the Amaranthaceae Family: A Review. *Antioxidants*, 7(4), 53. doi: 10.3390/antiox7040053
- Naik, R., Arunsandeep, G., & Chandramohan, V. P. (2017). Numerical simulation for freeze drying of skimmed milk with moving sublimation front using tri-diagonal matrix algorithm. *Journal of Applied Fluid Mechanics*, 10(3), 813–818. doi: 10.18869/acadpub.jafm.73.240.27054
- Narendaran, S. T., Meyyanathan, S. N., & Karri, V. V. S. R. (2019). Experimental design in pesticide extraction methods: A review. *Food Chemistry*, 289, 384–395. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.045
- Navarrete-Solis, A., Hengl, N., Ragazzo-Sánchez, J. A., Baup, S., Calderón-Santoyo, M., Pignon, F., López-García, U. M., & Ortiz-Basurto, R. I. (2020). Rheological and physicochemical stability of hydrolyzed jackfruit juice (*Artocarpus heterophyllus* L.) processed by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 663–672. doi: 10.1007/s13197-019-04098-6
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259. doi: 10.1080/10408398.2015.1109498
- Nogueira, G. F., Soares, C. T., Martin, L. G. P., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2020). Influence of spray drying on bioactive compounds of blackberry pulp microencapsulated with arrowroot starch and gum arabic mixture. *Journal of Microencapsulation*, 37(1), 65–76. doi: 10.1080/02652048.2019.1693646
- Ochoa-Velasco, C. E., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2017). Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1747–1756. doi: 10.1007/s13197-017-2564-1
- Ortiz-Basurto, R. I., Rubio-Ibarra, M. E., Ragazzo-Sanchez, J. A., Beristain, C. I., & Jiménez-Fernández, M. (2017). Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray

- drying using fructans with different degrees of polymerisation. *Carbohydrate Polymers*, 175, 603–609. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.08.030
- Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., & Osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 187, 174–181. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.04.090
- Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2018). Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying: A comparative study. *Food Research International*, 111, 423–430. doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.058
- Özkan, G., & Ersus Bilek, S. (2014). Microencapsulation of natural food colourants. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(3), 145. doi: 10.11648/j.ijnfs.20140303.13
- Palabiyik, I., Durmaz, Y., Öner, B., Toker, O. S., Coksari, G., Konar, N., & Tamtürk, F. (2018). Using spray-dried microalgae as a natural coloring agent in chewing gum: Effects on color, sensory, and textural properties. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 1031–1039. doi: 10.1007/s10811-017-1324-y
- Pap, N., Mahosenaho, M., Pongrácz, E., Mikkonen, H., Jaakkola, M., Virtanen, V., Myllykoski, L., Horváth-Hovorka, Z., Hodúr, C., Vatai, G., & Keiski, R. L. (2012). Effect of ultrafiltration on anthocyanin and flavonol content of black currant juice (*Ribes nigrum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 921–928. doi: 10.1007/s11947-010-0371-z
- Papillo, V. A., Locatelli, M., Travaglia, F., Bordiga, M., Garino, C., Arlorio, M., & Coisson, J. D. (2018). Spray-dried polyphenolic extract from Italian black rice (*Oryza sativa* L., var. *Artemide*) as new ingredient for bakery products. *Food Chemistry*, 269, 603–609. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.07.059
- Pascual-Pineda, L. A., Rascón, M. P., Quintanilla-Carvajal, M. X., Castillo-Morales, M., Marín, U. R., & Flores-Andrade, E. (2019). Effect of porous structure and spreading pressure on the storage stability of red onion microcapsules produced by spray freezing into liquid cryogenic and spray drying. *Journal of Food Engineering*, 245, 65–72. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.10.018
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A.-J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. doi: 10.1007/s11947-012-0867-9
- Patidar, M. K., Nighojkar, S., Kumar, A., & Nighojkar, A. (2018). Pectinolytic enzymes-solid state fermentation, assay methods and applications in fruit juice industries: A review. *3 Biotech*, 8(4), 199. doi: 10.1007/s13205-018-1220-4
- Pavón-García, L. M. A., Pérez-Alonso, C., Orozco-Villafuerte, J., Pimentel-González, D. J., Rodríguez-Huezo, M. E., & Vernon-Carter, E. J. (2011). Storage stability of the

- natural colourant from *Justicia spicigera* microencapsulated in protective colloids blends by spray-drying: Colour storage stability. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(7), 1428–1437. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02634.x
- Pereira, D. C. de S., Beres, C., Gomes, F. dos S., Tonon, R. V., & Cabral, L. M. C. (2020). Spray drying of juçara pulp aiming to obtain a “pure” powdered pulp without using carrier agents. *Drying Technology*, 38(9), 1175–1185. doi: 10.1080/07373937.2019.1625363
- Pieczykolan, E., & Kurek, M. A. (2019). Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 665–671. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.073
- Pitalua, E., Jimenez, M., Vernon-Carter, E. J., & Beristain, C. I. (2010). Antioxidative activity of microcapsules with beetroot juice using gum Arabic as wall material. *Food and Bioproducts Processing*, 88(2–3), 253–258. doi: 10.1016/j.fbp.2010.01.002
- Poondla, V., Bandikari, R., Subramanyam, R., & Obulam, V. S. R. (2015). Low temperature active pectinases production by *Saccharomyces cerevisiae* isolate and their characterization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(1), 70–76. doi: 10.1016/j.bcab.2014.09.008
- Poondla, V., Yannam, S. K., Gummadi, S. N., Subramanyam, R., & Obulam, V. S. R. (2016). Enhanced production of pectinase by *Saccharomyces cerevisiae* isolate using fruit and agro-industrial wastes: Its application in fruit and fiber processing. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 6, 40–50. doi: 10.1016/j.bcab.2016.02.007
- Porcherot, C., Delplanque, S., Gaudreau, N., & Cayeux, I. (2013). Seeing, smelling, feeling! Is there an influence of color on subjective affective responses to perfumed fabric softeners?. *Food Quality and Preference*, 27(2), 161–169. doi: 10.1016/j.foodqual.2012.06.011
- Portmann, C., Kleinhans, S., Arpagaus, C., Schönenberger, G., & Büchi Labortechnik. (2007). The laboratory assistant. Flawil: Büchi Labortechnik AG.
- Quirós, A. M., Acosta, O. G., Thompson, E., & Soto, M. (2019). Effect of ethanolic extraction, thermal vacuum concentration, ultrafiltration, and spray drying on polyphenolic compounds of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 42(4). doi: 10.1111/jfpe.13051
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, 328, 406–414. doi: 10.1016/j.powtec.2017.12.018
- Rascón, M. P., Beristain, C. I., García, H. S., & Salgado, M. A. (2011). Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum arabic

- and soy protein isolate as wall materials. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 549–557. doi: 10.1016/j.lwt.2010.08.021
- Robert, P., Carlsson, R. M., Romero, N., & Masson, L. (2003). *Stability of Spray-Dried Encapsulated Carotenoid Pigments from Rosa Mosqueta (Rosa rubiginosa) Oleoresin*. 80(11), 1115–1120.
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., & Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 1039–1045. doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.038
- Rocha, G. A., Fávaro-Trindade, C. S., & Grosso, C. R. F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioprocess Processing*, 90(1), 37–42. doi: 10.1016/j.fbp.2011.01.001
- García-Lucas, K. A., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., Campanella, O. H., Patel, B. K., & Barriada-Bernal, L. G. (2017). Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* pitaya juice powder: García-Lucas et al. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12470. doi: 10.1111/jfpe.12470
- Roriz, C. L., Heleno, S. A., Carocho, M., Rodrigues, P., Pinela, J., Dias, M. I., Fernandes, I. P., Barreiro, M. F., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Betacyanins from *Gomphrena globosa* L. flowers: Incorporation in cookies as natural colouring agents. *Food Chemistry*, 329, 127178. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127178
- Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., Martelli-Tosi, M., da Silva, M. P., Makimori, G. Y. F., & Favaro-Trindade, C. S. (2020). Utilization of grape pomaces and brewery waste *Saccharomyces cerevisiae* for the production of bio-based microencapsulated pigments. *Food Research International*, 136, 109470. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109470
- Ruiz Canizales, J., Heredia, J. B., Avila, J. A. D., Santana, T. J. M., Ochoa, M. A. V., Sánchez, R. M. R., & Aguilar, G. A. G. (2019). Microencapsulation of blue maize (*Zea mays* L.) polyphenols in two matrices: Their stability during storage and in vitro digestion release. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 892–900. doi: 10.1007/s11694-018-0003-2
- Saenz, C., Tapia, S., Chavez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.095
- Sant’Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601–608. doi: 10.1016/j.dyepig.2013.04.011
- Santana, A. A., Cano-Higueta, D. M., de Oliveira, R. A., & Telis, V. R. N. (2016). Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp



- (*Euterpe edulis*) by spray drying. *Food Chemistry*, 212, 1–9. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.05.148
- Santana, A. A., Kurozawa, L. E., Oliveira, R. A. De, Santana, & Park, J. K. (2013). Influence of Process Conditions on the Physicochemical Properties of Pequi Powder Produced by Spray Drying. *Drying Technology*, 31(July 2013), 825–836. doi: 10.1080/07373937.2013.766619
- Santiago, M. C. P. de A., Nogueira, R. I., Paim, D. R. S. F., Gouvêa, A. C. M. S., Godoy, R. L. de O., Peixoto, F. M., Sidney, P., Freitas, S. P. (2016). Effects of encapsulating agents on anthocyanin retention in pomegranate powder obtained by the spray drying process. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 551–556. doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.059
- Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H., & Gomes, P. S. (2018). Spray Drying: An Overview. In R. Pignatello & T. Musumeci (Eds.), *Biomaterials—Physics and Chemistry—New Edition*. InTech. doi: 10.5772/intechopen.72247
- Sarabandi, K., Peighambaroust, S. H., Mahoonak, A. S., & Samaei, S. P. (2017). Effect of carrier types and compositions on the production yield, microstructure and physical characteristics of spray dried sour cherry juice concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1602–1612. doi: 10.1007/s11694-017-9540-3
- Sarı, A., Şahin, H., Özsoy, N., & Özbek Çelik, B. (2019). Phenolic compounds and in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities of *Scorzonera hieraciifolia* Hayek roots. *South African Journal of Botany*, 125, 116–119. doi: 10.1016/j.sajb.2019.07.009
- Sawicki, T., & Wiczowski, W. (2018). The effects of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. *Food Chemistry*, 259, 292–303. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.143
- Scotter, M. J. (2011). Emerging and persistent issues with artificial food colours: Natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink: Emerging and persistent issues with artificial food colours. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3(1), 28–39. doi: 10.1111/j.1757-837X.2010.00087.x
- Shaaruddin, S., Mahmood, Z., Ismail, H., Mohd Ghazali, H., Hamzah, Mohd. Y., & Muhammad, K. (2019). Stability of  $\beta$ -carotene in carrot powder and sugar confection as affected by resistant maltodextrin and octenyl succinate anhydride (OSA) starches. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3461–3470. doi: 10.1007/s13197-019-03832-4
- Sidhu, G. K., Singh, M., & Kaur, P. (2019). Effect of operational parameters on physicochemical quality and recovery of spray-dried tomato powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10). doi: 10.1111/jfpp.14120

- Singh, A., Ganesapillai, M., & Gnanasundaram, N. (2017). Optimizaton of extraction of betalain pigments from beta vulgaris peels by microwave pretreatment. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, 032004. doi: 10.1088/1757-899X/263/3/032004
- Sobieralska, M., & Kurek, M. A. (2019). Beta-glucan as wall material in encapsulation of elderberry (*Sambucus nigra*) extract. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3), 334–341. doi: 10.1007/s11130-019-00741-x
- Soquetta, M. B., Terra, L. de M., & Bastos, C. P. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 400–412. doi: 10.1080/19476337.2017.1411978
- Souza, A. L. R., Hidalgo-Chávez, D. W., Pontes, S. M., Gomes, F. S., Cabral, L. M. C., & Tonon, R. V. (2018). Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. *LWT - Food Science and Technology*, 91(October 2017), 286–292. doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.053
- Souza, V. B. de, Fujita, A., Thomazini, M., da Silva, E. R., Lucon, J. F., Genovese, M. I., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, 164, 380–386. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.049
- Spence, C., Levitan, C. A., Shankar, M. U., & Zampini, M. (2010). Does food color influence taste and flavor perception in humans?. *Chemosensory Perception*, 3(1), 68–84. doi: 10.1007/s12078-010-9067-z
- Sravan Kumar, S., Manoj, P., & Giridhar, P. (2014). A method for red-violet pigments extraction from fruits of Malabar spinach (*Basella rubra*) with enhanced antioxidant potential under fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 3037–3043. doi: 10.1007/s13197-014-1335-5
- Steiner, B. M., McClements, D. J., & Davidov-Pardo, G. (2018). Encapsulation systems for lutein: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 71–81. doi: 10.1016/j.tifs.2018.10.003
- Stick, R. V., & Williams, S. J. (2009). Disaccharides, Oligosaccharides and Polysaccharides. In *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life* (pp. 321–341). Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-240-52118-3.00009-0
- Sun-Waterhouse, D., & Waterhouse, G. I. N. (2015). Spray-drying of green or gold kiwifruit juice–milk mixtures; novel formulations and processes to retain natural fruit colour and antioxidants. *Food and Bioprocess Technology*, 8(1), 191–207. doi: 10.1007/s11947-014-1397-4
- Syamila, M., Gedi, M. A., Briars, R., Ayed, C., & Gray, D. A. (2019). Effect of temperature, oxygen and light on the degradation of  $\beta$ -carotene, lutein and  $\alpha$ -tocopherol in spray-dried spinach juice powder during storage. *Food Chemistry*, 284, 188–197. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.055

- Tang, B., He, Y., Liu, J., Zhang, J., Li, J., Zhou, J., Ye, Y., Wang, J., & Wang, X. (2019). Kinetic investigation into pH-dependent color of anthocyanin and its sensing performance. *Dyes and Pigments*, *170*, 107643. doi: 10.1016/j.dyepig.2019.107643
- Tatar Turan, F., Cengiz, A., & Kahyaoglu, T. (2015). Evaluation of ultrasonic nozzle with spray-drying as a novel method for the microencapsulation of blueberry's bioactive compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *32*, 136–145. doi: 10.1016/j.ifset.2015.09.011
- Tatar Turan, F., Cengiz, A., Sandıkçı, D., Dervisoglu, M., & Kahyaoglu, T. (2016). Influence of an ultrasonic nozzle in spray-drying and storage on the properties of blueberry powder and microcapsules: Influence of ultrasonic nozzle in spray-drying and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(12), 4062–4076. doi: 10.1002/jsfa.7605
- Tanon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, *43*(3), 907–914. doi: 10.1016/j.foodres.2009.12.013
- Tun Norbrillinda, M., Mahanom, H., Elyana, N. N., & Farina, S. N. I. (2016). Optimization of spray drying process of *Sargassum muticum* color extract. *Drying Technology*, *34*(14), 1735–1744. doi: 10.1080/07373937.2016.1204550
- Tupuna, D. S., Paese, K., Guterres, S. S., Jablonski, A., Flôres, S. H., & Rios, A. de O. (2018). Encapsulation efficiency and thermal stability of norbixin microencapsulated by spray-drying using different combinations of wall materials. *Industrial Crops and Products*, *111*, 846–855. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.12.001
- Tupuna-Yerovi, D. S., Paese, K., Flôres, S. H., Guterres, S. S., & Rios, A. (2020). Addition of norbixin microcapsules obtained by spray drying in an isotonic tangerine soft drink as a natural dye. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(3), 1021–1031. doi: 10.1007/s13197-019-04135-4
- Uquiche, E., Antilaf, I., & Millao, S. (2016). Enhancement of pigment extraction from *B. braunii* pretreated using CO<sup>2</sup> rapid depressurization. *Brazilian Journal of Microbiology*, *47*(2), 497–505. doi: 10.1016/j.bjm.2016.01.020
- Valente, M. da C. d. C., do Nascimento, R. A., Santana, E. B., Ribeiro, N. F. d. P., Costa, C. M. L., & de Faria, L. J. G. (2019). Spray drying of extract from *Euterpe oleracea* Mart.: Optimization of process and characterization of the açai powder. *Journal of Food Process Engineering*, *42*(8), 1–10. doi: 10.1111/jfpe.13253
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(7), 2436–2445. doi: 10.1007/s13197-018-3161-7

- Veggi, P. C., Martinez, J., & Meireles, M. A. A. (2012). Fundamentals of Microwave Extraction. In F. Chemat & G. Cravotto (Eds.), *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds* (pp. 15–52). Boston, MA: Springer US. doi: 10.1007/978-1-4614-4830-3\_2
- Venil, C. K., Khasim, A. R., Aruldass, C. A., & Ahmad, W. A. (2016). Microencapsulation of flexirubin-type pigment by spray drying: Characterization and antioxidant activity. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *113*, 350–356. doi: 10.1016/j.ibiod.2016.01.014
- Vernon-Carter, E. J., Beristain, C. I., & Pedroza-Islas, R. (2000). Mesquite gum (Prosopis gum). In *Developments in Food Science* (Vol. 41, pp. 217–238). Elsevier. doi: 10.1016/S0167-4501(00)80011-4
- Waterhouse, G. I. N., Sun-Waterhouse, D., Su, G., Zhao, H., & Zhao, M. (2017). Spray-drying of antioxidant-rich blueberry waste extracts; interplay between waste pretreatments and spray-drying process. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(6), 1074–1092. doi: 10.1007/s11947-017-1880-9
- Wong, C. W., & Tan, H. H. (2017). Production of spray-dried honey jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder from enzymatic liquefied puree. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(2), 564–571. doi: 10.1007/s13197-017-2501-3
- Wong, C. W., Teoh, C. Y., & Putri, C. E. (2018). Effect of enzymatic processing, inlet temperature, and maltodextrin concentration on the rheological and physicochemical properties of spray-dried banana (*Musa acuminata*) powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, *42*(2), e13451. doi: 10.1111/jfpp.13451
- Yoshida, K., Mori, M., & Kondo, T. (2009). Blue flower color development by anthocyanins: From chemical structure to cell physiology. *Natural Product Reports*, *26*(7), 884. doi: 10.1039/b800165k
- Yu, Y., & Lv, Y. (2019). Degradation kinetic of anthocyanins from rose (*Rosa rugosa*) as prepared by microencapsulation in freeze-drying and spray-drying. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 2009–2021. doi: 10.1080/10942912.2019.1701011
- Zhang, Q., Gonzalez de Mejia, E., Luna-Vital, D., Tao, T., Chandrasekaran, S., Chatham, L., Juvik, J., Singh, V., & Kumar, D. (2019). Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. *Food Chemistry*, *289*, 739–750. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.116
- Zotarelli, M. F., da Silva, V. M., Durigon, A., Hubinger, M. D., & Laurindo, J. B. (2017). Production of mango powder by spray drying and cast-tape drying. *Powder Technology*, *305*, 447–454. doi: 10.1016/j.powtec.2016.10.027
- Zou, T., Wu, H., Li, H., Jia, Q., & Song, G. (2013). Comparison of microwave-assisted and conventional extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves:

Other Techniques. *Journal of Separation Science*, 36, 3457-3462. doi:  
10.1002/jssc.201300518

## Capítulo II

### **Microencapsulados de los compuestos bioactivos del jugo fermentado de *Stenocereus pruinosus* usando maltodextrina, goma arábica y goma de mesquite como agentes encapsulantes**

Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán

#### **Resumen**

La pitaya (*Stenocereus pruinosus*) es una fruta endémica mexicana, rica en nutrientes, pero muy perecedera. El jugo contiene una gran cantidad de compuestos benéficos, especialmente betalaínas, pero la alta viscosidad debido a la presencia de mucílago limita su uso como pigmento en los alimentos. Para obtener los pigmentos encapsulados de pitaya roja, se utilizó un diseño *simplex-lattice*. El jugo fermentado de pitaya se mezcló con diferentes encapsulantes: goma de mezquite (MG), goma arábica (GA), maltodextrina (MDX) o sus combinaciones (5 % p/v) y se encapsularon mediante secado por aspersión a 160 °C (temperatura de entrada). Las microcápsulas se analizaron en términos de color, compuestos bioactivos y algunas características fisicoquímicas. Los resultados mostraron que tres agentes encapsulantes en forma simple y sus combinaciones (binarias y ternarias) permiten la obtención de polvos. El rendimiento varió entre el 64 y el 84 %. Todos los polvos tenían un contenido de humedad inferior al 6 % y una actividad de agua alrededor de 0.208. Los polvos presentaron un color rojo pálido (*Hue* y *Croma* alrededor de 16° y 32, respectivamente). Las mezclas MG y GA tuvieron los valores más altos en *red-index*. La combinación MG-GA retuvo la mayor cantidad de betalaínas (3.28 ± 0.09 mg de betalaínas totales/g de polvo, particularmente betaxantinas). El contenido de compuestos fenólicos de los polvos osciló entre 8.01 y 10.77 mg de equivalentes de ácido gálico/g de polvo y una actividad antioxidante

máxima de 15.05 mg de equivalentes de Trolox/g de polvo, lo cual se obtuvo con la mezcla ternaria (MG-GA-MDX). Los pigmentos microencapsulados de la pitaya roja podrían utilizarse como colorante natural en la industria alimentaria.

### **Palabras clave**

Microencapsulación, *Stenocereus pruinosus*, pitaya roja, goma de mezquite; goma arábica, compuestos bioactivos

### **Introducción**

Los pigmentos, particularmente aquellos obtenidos de fuentes naturales han ganado importancia en la industria alimenticia, ya que estos pueden reemplazar a los colorantes sintéticos, los cuales han sido asociados con algunos padecimientos cuando son consumidos frecuentemente o en exceso. De acuerdo algunos estudios, estos pueden alterar el comportamiento en niños, incrementar las alergias respiratorias y en casos extremos muestran actividad genotóxica (Amchova et al., 2015). Dentro de los pigmentos naturales más comunes se encuentran las clorofilas, carotenoides, flavonoides, antocianinas y betalaínas (Delgado-Vargas, 2002). Los cuales, al ser consumidos promueven beneficios a la salud ya que previenen o ayudan en el tratamiento de padecimientos como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, entre otras (Delgado-Vargas, 2002; Sari et al., 2019). Por otro lado, las betalaínas son pigmentos solubles en agua comúnmente encontrados en las vacuolas de las plantas. Se dividen en betaxantinas (naranja-amarillo) y

betacianinas (rojo-morado) (Chandrasekhar et al., 2015; Delgado-Vargas, 2002). Estas poseen una alta actividad antioxidante y poseen propiedades antimicrobianas contra algunos microorganismos (Choo, 2018).

Los frutos de la pitaya (*Stenocereus pruinosus*) son endémicos de México, tienen forma de baya con espinas grandes, semillas pequeñas y comestibles de color negro, pulpa mucilaginoso que puede variar en color, teniendo el blanco, amarillo, rosa, naranja, rojo o morado (García-Cruz et al., 2017). La pulpa del fruto es la parte mayoritaria y representa la porción comestible (García-Cruz et al., 2013). Su consumo podría aportar al ser humano los beneficios de la betalaínas por su elevada cantidad, así como otros beneficios debido a los flavonoides, carotenoides, esteroides, triterpenos, hierro (Fe) y ácido ascórbico (García-Cruz et al., 2017; Ramírez-Rodríguez et al., 2020). Sin embargo, los tiempos de producción/cosecha son muy cortos lo que puede limitar su consumo (Ochoa-Velasco & Guerrero Beltrán, 2013). Además, al ser una fruta climatérica, dura pocos días en fresco y las condiciones ambientales (temperatura, pH, luz y oxígeno), así como su alto contenido en azúcares pueden provocar la pérdida de color de las betalaínas en el jugo (Khan & Giridhar, 2014).

La encapsulación de compuestos naturales, como los pigmentos, ha demostrado extender la estabilidad de estos, siendo el secado por aspersión uno de los métodos más utilizados debido al bajo costo, la simplicidad y el corto tiempo de procesamiento (Bakry et al., 2016; Santos et al., 2018). Las condiciones de proceso y la mezcla de encapsulados juegan un papel importante a través de la encapsulación y el secado. Por lo tanto, algunos investigadores sugieren que un pretratamiento aplicado al extracto antes del secado por



aspersión podría aumentar la cantidad y la estabilidad de las betalaínas antes de la encapsulación (Castro-Enríquez et al., 2020; Kumar & Giridhar, 2017; Quirós et al., 2019; Sravan Kumar et al., 2014).

La fermentación como pretratamiento al secado por aspersión podría ayudar al proceso de secado, debido a la reducción de azúcares fermentables los cuales son de bajo peso molecular (o baja temperatura de transición vítrea), evitando que el polvo se adhiera a las paredes del secador durante el proceso de secado (Bhandari et al., 1997; Santos et al., 2018). Aunado a lo anterior, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que es utilizada habitualmente en procesos de fermentación, ayuda a la hidrólisis de azúcares y sustancias como la pectina del jugo ya que libera enzimas pectinolíticas (Poondla et al., 2015); a pesar de que las enzimas comerciales también pueden utilizarse para hidrolizar sustancias como pectina en sistemas alimentarios líquidos, como los jugos de frutas, presentan la desventaja de requerir medios especiales para su producción, lo que se traduce en costos elevados.

Por otro lado, la adición de agentes acarreadores o encapsulantes al líquido que se va a secar por aspersión mejora el rendimiento del polvo obtenido, debido a la reducción de la pegajosidad y al aumento de la temperatura de transición vítrea del producto final. Los agentes acarreadores/encapsulantes más comunes son almidones, gomas, lípidos y proteínas (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021). Además, el uso de diferentes agentes acarreadores puede dar lugar a un producto final con propiedades fisicoquímicas propias de cada agente; sin embargo, en algunos casos, la combinación de agentes podría mejorar las propiedades de los polvos, como la retención del color. Hasta donde se sabe, no existen

reportes sobre la encapsulación de betalaínas utilizando goma de mezquite como encapsulante o sus combinaciones con otros agentes como goma arábiga y/o maltodextrina.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la combinación de tres agentes encapsulantes (goma de mesquite, goma arábiga y maltodextrina), para la obtención de betalaínas de jugo fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* de pitaya roja (*Stenocereus pruinosus*).

## **Materiales y Métodos**

### ***Materiales***

Los frutos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fueron obtenidos de un productor local en Puebla, México. Tras su llegada, se clasificaron para separar los dañados. Se mantuvieron a temperatura ambiente hasta que completaran su madurez usando el color y la firmeza al tacto como indicadores de maduración. Los frutos se lavaron, desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (1 % v/v) y se eliminó el agua superficial con una toalla de papel. Posteriormente, se retiró el pericarpio a mano, colocando la pulpa en bolsas de polietileno y almacenándola a -20 °C para su uso posterior.

### ***Pre-tratamiento de jugo de pitaya***

### ***Inóculo***

La cepa *Saccharomyces cerevisiae* DBVPG6765 se obtuvo de la colección del Laboratorio de Microbiología Alimentaria de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP), Cholula,

Puebla, México. El inóculo de levadura se almacenó en viales con glicerol [1:1, v /v] a -20 °C hasta su uso. Cada vez que se realizó la fermentación del jugo de pitaya, se suspendió un vial de inóculo de levadura en 50 mL de Caldo de Dextrosa Sabouraud estéril (Microtech Scientific, BD Difco) y se dejó incubar a 27 °C en un baño de agitación hasta que el cultivo alcanzara la fase estacionaria; este valor se determinó por densidad óptica utilizando un espectrofotómetro Jenway 7305 (Cole-Parmer, Jenway, Reino Unido) a 660 nm, leyendo cada hora hasta que el valor de la absorbancia fuera el mismo por lo menos en tres lecturas consecutivas. En la fase estacionaria de crecimiento, se realizó el recuento en placa de las levaduras para determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) de levadura por mL de caldo, que fueron de alrededor de  $2.16 \times 10^7$  UFC/mL.

### ***Fermentación y concentración del jugo***

La pulpa se descongeló durante 24 h en condiciones de refrigeración (4 °C). Después de un proceso de homogenización mecánico, la pulpa se filtró eliminando las semillas y partículas de mayor tamaño. Se añadió el inóculo al jugo en una proporción de 1:100 (v/v). La mezcla jugo – inóculo se colocó en un frasco de cristal estéril; posteriormente, la fermentación se realizó a 27 °C durante 72 h en un baño de agitación a 80 rpm en condiciones de oscuridad para evitar la degradación de los pigmentos. El jugo fermentado se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 min a 4 °C. Finalmente, el jugo se concentró en un rotavapor (Büchi, R-300, Flawil, Suiza) a 35 °C y 33 mmHg hasta alcanzar 6 °Bx (6 % p/p de sólidos solubles totales). El jugo concentrado se ajustó a 5 °Bx utilizando agua destilada.

### ***Diseño experimental***

Se utilizaron mezclas simples, dobles y ternarias de los agentes de recubrimiento para la encapsulación del jugo concentrado. Las variables independientes consideradas en este estudio fueron la goma arábica (GA) (CEDROSA S.A. de C.V.), maltodextrina 10DE (MDX) (Ingredion S.A. de C.V.) y goma de mezquite (MG) purificada según el procedimiento de Beristain et al. (2002). Se utilizaron siete formulaciones diferentes de los agentes encapsulantes y el jugo concentrado.

Los resultados se ajustaron al siguiente modelo polinómico (1):

$$y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (1)$$

*donde*, los valores  $y$  son las diferentes respuestas (rendimiento, contenido de humedad, actividad de agua ( $a_w$ ), *Hue*, *Croma*, betalaínas totales, compuestos fenólicos, actividad antioxidante), los valores  $\beta_n$  son los coeficientes y  $x_1, x_2, x_3$  son la concentración de maltodextrina, goma de mezquite y goma arábica, respectivamente.

### ***Proceso de encapsulación***

Se utilizó la microencapsulación mediante secado por aspersión. Se alimentaron 100 mL del jugo fermentado y concentrado y las diferentes combinaciones de agentes encapsulantes planteadas en la sección anterior, a un mini secador por aspersión Büchi (Büchi, B-290, Suiza); como agente encapsulante se utilizaron las mezclas (MDX, MG, GA) del apartado

anterior al 5% p/v. Las condiciones de operación del equipo se mantuvieron fijas para todas las formulaciones: Flujo de alimentación 10 mL/min, flujo de aire 38 m<sup>3</sup>/min, presión de atomización de 1 bar, temperatura de entrada 180°C, diámetro de la boquilla de aspersión de 0.7 mm y la aspiración de aire al 100%. Los polvos obtenidos se almacenaron en oscuridad dentro de un desecador para su posterior análisis.

### ***Características físicas del jugo concentrado***

El jugo concentrado se analizó fisicoquímicamente: sólidos solubles totales (refractómetro manual, Atago F7, Tokio, Japón), contenido de humedad por el método gravimétrico a 105 °C hasta peso constante, viscosidad (viscosímetro Brookfield, DV-I, Stoughton, EUA), densidad y parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) con un colorímetro portátil CR-400 (Konica Minolta, Osaka, Japón) con un iluminante estándar D65 y un observador estándar de 2°. Se calcularon el tono ( $Hue = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ ), y la saturación ( $Croma = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ ) y el *red-index* ( $I-R = 90.909*(a^*/L^*)$ ), una modificación del cálculo del *yellow-index* considerando el valor máximo de  $a^*$  como 110 y de  $L^*$  como 100 (Rhim et al., 1999).

### ***Rendimiento y características fisicoquímicas de los polvos***

*Rendimiento.* El rendimiento del polvo se calculó según la ecuación (2).

$$Rendimiento (\%) = \frac{PW}{EA} \times 100 \quad (2)$$

*donde*,  $PW$  es el peso del polvo (g) obtenido del proceso de secado por atomización,  $EA$  es el agente de encapsulación (g) más los sólidos totales (g) en el jugo concentrado.

*Contenido de humedad y actividad de agua ( $a_w$ )*. El contenido de humedad se determinó secando dos gramos de polvo a 75 °C hasta peso constante. La  $a_w$  se determinó utilizando un higrómetro AQUALAB (AQUALAB, Pullman, WA, USA).

*Densidades aparente y compacta*. Se pesó el polvo (aproximadamente 2 g) y se colocó en una probeta graduada de 10 mL. La densidad aparente se calculó dividiendo la masa del polvo por el volumen ocupado en la probeta. La densidad compacta se calculó tras golpear la probeta durante 1 minuto sobre una superficie plana; por lo que, la densidad se recalculó con la masa y el nuevo volumen.

*Color*. El color del polvo se midió en una celda cilíndrica de cuarzo ( $\phi = 45$  mm, 17 mm de profundidad) para medir los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

*Tamaño de las partículas*. La distribución del tamaño de las partículas se midió con un analizador de tamaño de partículas por difracción láser (Bluewave, Microtrac, USA).

### ***Compuestos bioactivos en el jugo concentrado y en los polvos***

Para el jugo concentrado, se tomó una alícuota de la muestra directamente para su análisis. Por otro lado, para los pigmentos microencapsulados, se disolvieron 200 mg del polvo en 20 mL de agua y se agitaron en vórtex durante 1 h a alta velocidad. Todas las muestras se centrifugaron a 6,000 rpm a 15 °C durante 15 min y se filtraron con papel Whatman No 1.

### *Cuantificación de betalaínas*

Para la cuantificación de las betalaínas se utilizó un método espectrofotométrico descrito por Herbach et al. (2006). Los cálculos se realizaron con los valores máximos de absorbancia a 535 y 483 nm para las betacianinas y las betaxantinas, respectivamente. El contenido total de betalaínas fue la suma de las betacianinas y las betaxantinas calculada según la ecuación (3).

$$\text{Betacianinas o betaxantinas} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right] = \frac{A \times DF \times MW \times Vd}{\epsilon \times L \times Wd} \quad (3)$$

donde,  $A$  es el valor máximo de absorbancia a 535 y 483 nm,  $DF$  es el factor de dilución,  $Vd$  es el volumen de muestra en mL (jugo concentrado o polvo reconstituido),  $Wd$  es el peso en gramos de la muestra,  $L$  es el tamaño de la celda de cuarzo (1 cm). El peso molecular ( $MW$ ) y el coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ) para la betacianina son 550 g/mol y 60,000 L/mol cm en agua, respectivamente; y para las betaxantinas son 350 g/mol y 48,000 L/mol cm en agua, respectivamente.

### *Actividad antioxidante (DPPH)*

La actividad antioxidante se determinó por la inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Sigma-Aldrich, USA). La prueba de DPPH con modificaciones se realizó añadiendo 200  $\mu\text{L}$  de muestra a 2 mL de 0.1 mM de DPPH (absorbancia  $0.90 \pm 0.05$  a 517 nm). Después de 30 min, se leyó la absorbancia a 517 nm (Brand-Williams et al., 1995). El porcentaje de inhibición se calculó mediante la ecuación (4). Los resultados (ecuación (5))

se reportaron como equivalentes de Trolox (Sigma-Aldrich, EE. UU.) a partir del gráfico de la ecuación estándar a diferentes concentraciones de Trolox.

$$Inibición (\%) = \frac{Abs_0 - Abs_t}{Abs_0} \times 100 \quad (4)$$

$$TE \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{A-b}{m} \times DF \times 100 \quad (5)$$

donde,  $Abs_0$  es la absorbancia del reactivo DPPH en el tiempo 0,  $Abs_t$  es la absorbancia en el estado estacionario para DPPH,  $A$  es la absorbancia de la muestra,  $b$  es el intercepto (1.107),  $m$  es la pendiente (0.780 L/mg) con  $R^2 = 0.992$ , y  $DF$  es el factor de dilución de la muestra.

### ***Compuestos fenólicos totales***

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó por el método de Singleton & Rossi (1965) con algunas modificaciones. Brevemente, se mezclaron 200  $\mu$ L de muestra con 2 mL de agua y 200  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA); posteriormente, la mezcla se incubó durante 3 min en la oscuridad. Transcurrido este tiempo, se añadió 1 mL de  $Na_2CO_3$  2M. Tras 30 min de incubación en la oscuridad, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV/Vis. Los resultados se reportaron como equivalentes de ácido gálico (GAE) a partir del gráfico de la ecuación estándar a diferentes



concentraciones de ácido gálico. Los compuestos fenólicos totales se calcularon con la ecuación (6).

$$GAE\left(\frac{mg}{g}\right) = \frac{A-b}{m} \times DF \times 100 \quad (6)$$

donde,  $A$  es la absorbancia de la muestra,  $b$  es el intercepto (0.0008),  $m$  es la pendiente (0.006 L/mg) con  $R^2 = 0.998$ , y  $DF$  es el factor de dilución de la muestra. Los resultados se reportaron como mg de ácido gálico por g de muestra.

### *Análisis estadístico*

Se realizaron las pruebas de ANOVA y Tukey ( $P = 0.05$ ) para observar las diferencias entre las medias de las variables independientes utilizando el software Statistix 8.1. La superficie de respuesta del modelo de diseño de mezcla cúbico especial se realizó utilizando el programa Design Expert 7.0.0 (Stat Ease Inc., USA).

## **Resultados**

### *Características del jugo de pitaya fermentado y concentrado*

La Tabla 1 muestra las características fisicoquímicas del jugo tras la fermentación (licuefacción enzimática) y concentración. El jugo fermentado mostró un consumo total de

azúcares reductores/fermentables analizados con la solución de Fehling (datos no mostrados). El jugo fermentado tuvo un 7.5 % de sólidos totales y un contenido de humedad de  $92.42 \pm 1.19$  % (p/p) y 31cP de viscosidad. El color del jugo fermentado fue rojo brillante debido al alto contenido en betalaínas ( $370.97 \pm 39.51$  mg de betalaínas totales/100g bs). Además, el jugo conservó una gran cantidad de compuestos fenólicos con una elevada actividad antioxidante ( $1431.50 \pm 36.94$  mg GAE/100 g bs).

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas del jugo fermentado y concentrado de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) ajustado a aproximadamente 5 °Bx.

<b>Parámetros</b>	<b>Valor</b>
Sólidos solubles totales (°Bx)	$5.30 \pm 0.12$
Sólidos totales (%)	$7.57 \pm 0.19$
Humedad (% p/p)	$92.42 \pm 1.19$
$\mu$ (cP)	$31.05 \pm 0.98$
$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	$1.03 \pm 0.04$
<i>L</i> *	$36.07 \pm 1.30$
<i>a</i> *	$29.67 \pm 3.36$
<i>b</i> *	$9.32 \pm 1.27$
<i>Hue</i>	$17.41 \pm 0.37$
<i>Croma</i>	$31.09 \pm 3.58$
Índice de rojo (%)	$74.66 \pm 5.77$
Betacianinas (mg/100g bs <sup>a</sup> )	$169.61 \pm 18.01$
Betaxantinas (mg/100g bs)	$201.36 \pm 21.49$
Betalaínas totales (mg/100g bs)	$370.97 \pm 39.51$
Compuestos fenólicos totales (mg GAE <sup>b</sup> /100g bs)	$1431.50 \pm 36.94$
Actividad antioxidante DPPH (mg TE <sup>c</sup> /100g bs)	$2160.37 \pm 86.39$

<sup>a</sup>bs, Base seca; <sup>b</sup>GAE, Equivalentes de ácido gálico; <sup>c</sup>TE, Equivalentes de Trolox;  $\pm$  representa la desviación estándar de n = 3.

## *Características del polvo*

### *Rendimiento, humedad y $a_w$*

El rendimiento, humedad y  $a_w$  de los microencapsulados se muestran en la Tabla 2.

*Rendimiento.* Los rendimientos (64.62 % a 84.73 %) de los microencapsulados del jugo de pitaya tuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). El comportamiento se muestra en la Figura 1a. El modelo polinómico (ecuación (1)) tuvo un buen ajuste ( $R^2 = 0.990$ ) para los datos de rendimientos (Tabla 3, Figura 2).

*Contenido de humedad.* Los valores del contenido de humedad oscilaron entre  $1.05 \pm 0.12$  y  $6.70 \pm 0.10$  % (Tabla 2). No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) dentro de los agentes encapsulantes individuales. Las mezclas de agentes binarios y ternarios (Tabla 2, Figura 1b) mostraron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ); sin embargo, el modelo (ecuación (1)) se ajustó a los datos experimentales ( $R^2 = 0.980$ ) satisfactoriamente (Tabla 3, Figura 2).

*Actividad del agua ( $a_w$ ).* Todos los valores de  $a_w$  de los polvos fueron inferiores a 0.208. Se observaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en la  $a_w$  del polvo entre los agentes de encapsulación (Tabla 2). Los valores de  $a_w$  más altos se observaron en los polvos con MDX, seguidos por los polvos con MG y GA.

**Tabla 2.** Diseño experimental y resultados del rendimiento y las propiedades físicas del polvo del jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fermentado.

ID	MDX <sup>a</sup> : MG <sup>b</sup> :GA <sup>c</sup>	Y <sup>d</sup> (%)	MC <sup>e</sup> (%)	$a_w$ <sup>f</sup>	$\rho_b$ <sup>g</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	$\rho_T$ <sup>h</sup> (g/cm <sup>3</sup> )
MDX	1: 0: 0	64.62±0.07 <sup>F</sup>	4.78±0.18 <sup>B</sup>	0.208±0.002 <sup>A</sup>	0.157±0.020 <sup>B</sup>	0.197±0.050 <sup>B</sup>
GA	0: 1: 0	66.16±0.24 <sup>E</sup>	4.08±0.40 <sup>BC</sup>	0.177±0.003 <sup>B</sup>	0.186±0.001 <sup>AB</sup>	0.255±0.004 <sup>AB</sup>
MG	0: 0: 1	71.86±0.37 <sup>C</sup>	3.42±0.23 <sup>CD</sup>	0.167±0.003 <sup>BC</sup>	0.220±0.018 <sup>A</sup>	0.330±0.007 <sup>A</sup>
MDX:GA	1/2: 1/2: 0	75.98±0.03 <sup>B</sup>	2.96±0.40 <sup>D</sup>	0.151±0.006 <sup>CD</sup>	0.189±0.002 <sup>AB</sup>	0.272±0.012 <sup>AB</sup>
MDX:MG	1/2: 0: 1/2	71.24±0.06 <sup>C</sup>	1.05±0.12 <sup>E</sup>	0.134±0.002 <sup>DE</sup>	0.204±0.008 <sup>AB</sup>	0.288±0.005 <sup>A</sup>
GA:MG	0: 1/2: 1/2	84.73±0.05 <sup>A</sup>	6.70±0.10 <sup>A</sup>	0.126±0.003 <sup>E</sup>	0.176±0.013 <sup>AB</sup>	0.259±0.007 <sup>AB</sup>
MDX:GA:MG	1/3: 1/3: 1/3	69.36±0.05 <sup>D</sup>	3.78±0.37 <sup>C</sup>	0.129±0.004 <sup>E</sup>	0.186±0.008 <sup>AB</sup>	0.279±0.008 <sup>A</sup>

<sup>a</sup>MDX, maltodextrina; <sup>b</sup> GA, goma arábica; <sup>c</sup> MG, goma de mezquite; <sup>d</sup> Y, rendimiento; <sup>e</sup> MC, contenido de humedad (% p/p); <sup>f</sup>  $a_w$ , actividad de agua (at 25 °C); <sup>g</sup>  $\rho_b$ , densidad aparente; <sup>h</sup>  $\rho_T$ , densidad compacta; ± desviación estándar de n = 2; Superíndices con letra diferente en la misma columna representa diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0.05$ ).

### *Densidad de los polvos*

Las densidades de los polvos del jugo de pitaya fermentado se muestran en la Tabla 2.

*Densidad aparente* ( $\rho_b$ ). Los valores de densidad variaron entre 0.197 y 0.220 g/cm<sup>3</sup>. Los polvos con MDX y GA tuvieron los valores más bajos y más altos, respectivamente. El resto de las formulaciones de polvos mostraron valores de  $\rho_b$  similares sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellas.

*Densidad compacta* ( $\rho_T$ ). Se observó una tendencia diferente en las densidades compactas. Los valores oscilaron entre 0.197 y 0.330 g/cm<sup>3</sup>. El polvo con MDX presentó los valores más bajos de densidad compacta. Los polvos de GA, MDX-GA y MDX-GA-MG tuvieron las mayores densidades compactas ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 3.** Coeficientes de cada respuesta para el rendimiento, el contenido de humedad, la actividad del agua, las características de color (*Hue*, *Croma*) y los compuestos bioactivos del jugo de pitaya en polvo.

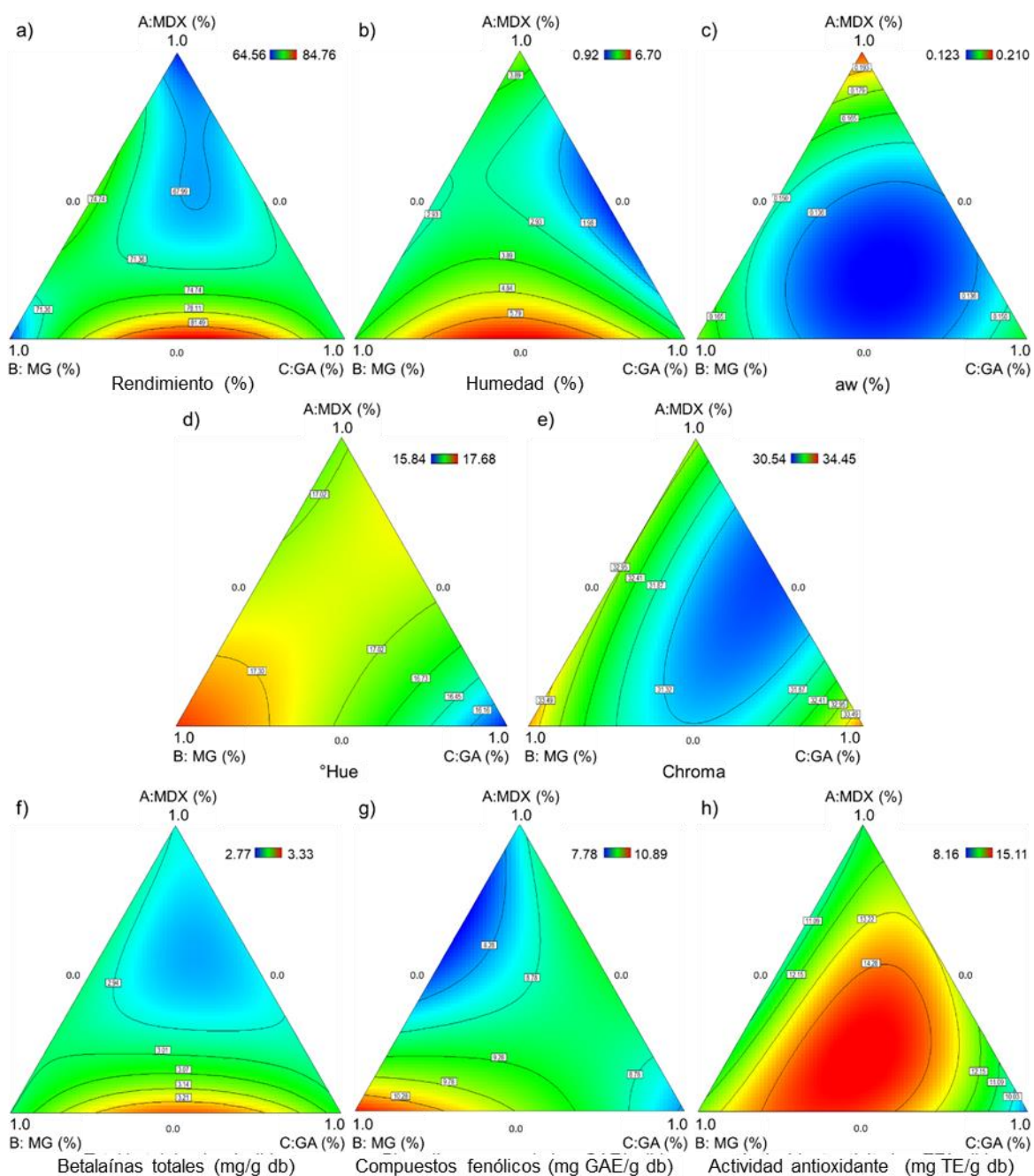
Coef	Rendimiento	Humedad	$a_w$	<i>Hue</i>	<i>Croma</i>	Betalainas totales	Compuestos fenólicos	Actividad antioxidante
$\beta_1$	64.62*	4.67*	0.21*	16.95*	33.13	2.94	8.67*	11.06
$\beta_2$	66.16*	3.86*	0.18*	17.59*	33.81	3	10.78*	12.4
$\beta_3$	71.86*	3.29*	0.17*	15.88*	34.04	3.03	8.21*	8.96
$\beta_{12}$	42.35*	-5.68*	-0.16*	-0.71	-1.75	0.067	-7.17*	-4.1
$\beta_{13}$	12.02*	-11.65*	-0.20*	2.77*	-11.14*	-0.27	3.17*	12.31*
$\beta_{23}$	62.89*	12.65*	-0.17*	0.98	-10.33*	1.04*	0.99	16.33*
$\beta_{123}$	-302.87*	-	-	-	-	-4.49	-	40.94
$R^2$	0.99	0.98	0.97	0.9	0.88	0.75	0.91	0.93

\* Coeficiente significativo ( $p < 0.05$ ) en el modelo del diseño de mezclas.

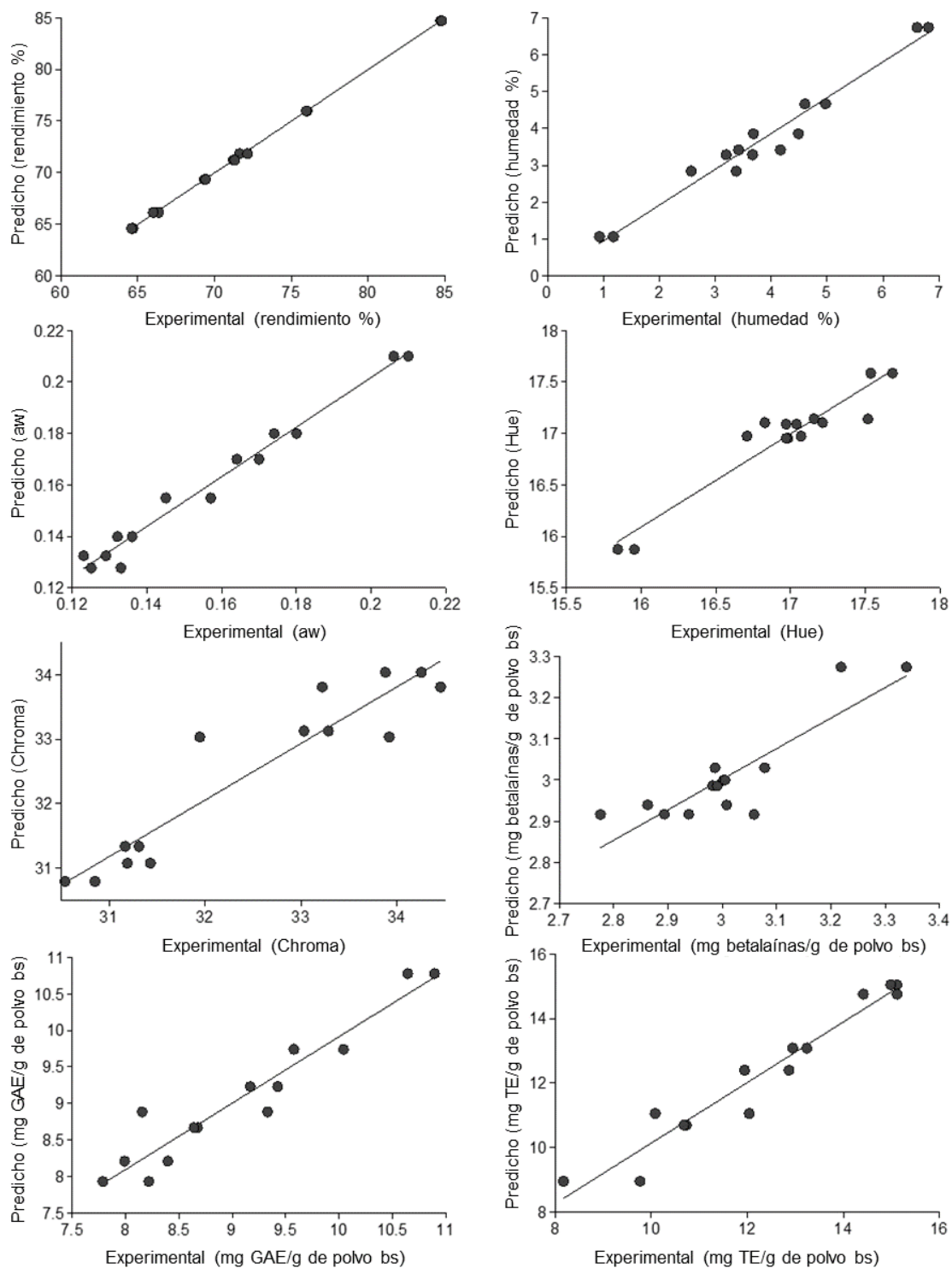
### *Color de los polvos*

Los valores de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  se muestran en la Tabla 4. Los tres parámetros de color, luminosidad ( $L^*$ ), rojo-verde ( $a^*$ ) y amarillo-azul ( $b^*$ ), presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los agentes encapsulantes simples, dobles o triples; sin embargo, todos los polvos eran de color rojo pálido. Los valores de *Hue* de los polvos se aproximaron a los  $16^\circ$ , similares a los del extracto sin encapsular. La saturación del color (*Croma*) se mantuvo cercana al valor del jugo fermentado. El *red-index* (Tabla 4) indica que el color se redujo aproximadamente un 30 % en comparación con el jugo sin encapsular. En el caso de los gráficos de contorno (Figura 1d y e), se obtuvieron buenos ajustes con el modelo ( $R^2 = 0.900$  y  $0.880$ , para *Hue* y *Croma*, respectivamente (Tabla 3)). El uso de GA, como único agente, redujo los valores de *Hue*. Por el contrario, el uso individual de los agentes de encapsulación aumentó los valores de *Croma*; sin embargo, se redujeron en las mezclas binarias y ternarias en los polvos.

**Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**



**Figura 1.** Diagramas de contorno de la influencia de los materiales de encapsulación (maltodextrina, MDX, goma de mezquite, MG, y goma arábica, GA) sobre a) Rendimiento, b) Contenido de humedad, c)  $a_w$ , d)  $^{\circ}$ Hue, e)  $Croma$ , f) Betalaínas totales, g) Compuestos fenólicos, h) Actividad antioxidante.



**Figure 2.** Ajuste de los modelos polinómicos para el rendimiento, humedad, actividad de agua, propiedades de color (*Hue*, *Croma*) y compuestos antioxidantes (betalainas, polifenoles y actividad antioxidante).

**Tabla 4.** Propiedades de color del polvo de jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fermentado.

Muestra	$L^*$ <sup>d</sup>	$a^*$ <sup>e</sup>	$b^*$ <sup>f</sup>	Hue <sup>g</sup>	Croma <sup>h</sup>	R-I (%) <sup>i</sup>
MDX <sup>a</sup>	56.59±0.09 <sup>AB</sup>	31.71±0.17 <sup>ABC</sup>	09.68±0.057 <sup>AB</sup>	16.97±0.01 <sup>AB</sup>	33.15±0.18 <sup>ABC</sup>	50.94±0.36 <sup>ABC</sup>
MG <sup>b</sup>	54.25±1.37 <sup>B</sup>	32.25±0.85 <sup>AB</sup>	10.23±0.205 <sup>A</sup>	17.61±0.10 <sup>A</sup>	33.83±0.87 <sup>AB</sup>	54.08±2.80 <sup>AB</sup>
GA <sup>c</sup>	53.55±1.25 <sup>B</sup>	32.76±0.27 <sup>A</sup>	09.33±0.028 <sup>B</sup>	15.88±0.08 <sup>C</sup>	34.06±0.27 <sup>A</sup>	55.63±1.76 <sup>A</sup>
MDX-MG	54.95±1.54 <sup>AB</sup>	31.49±1.34 <sup>ABC</sup>	09.63±0.382 <sup>AB</sup>	17.01±0.05 <sup>AB</sup>	32.93±1.40 <sup>ABC</sup>	52.15±3.69 <sup>ABC</sup>
MDX-GA	58.11±0.40 <sup>A</sup>	29.35±0.17 <sup>C</sup>	08.98±0.205 <sup>B</sup>	17.02±0.27 <sup>AB</sup>	30.69±0.22 <sup>C</sup>	45.91±0.05 <sup>C</sup>
MG-GA	56.64±0.48 <sup>AB</sup>	29.89±0.06 <sup>B</sup>	09.07±0.163 <sup>B</sup>	16.89±0.26 <sup>B</sup>	31.24±0.10 <sup>C</sup>	47.98±0.32 <sup>BC</sup>
MDX-MG-GA	56.77±0.04 <sup>AB</sup>	29.88±0.12 <sup>B</sup>	09.33±0.184 <sup>B</sup>	17.34±0.26 <sup>AB</sup>	31.31±0.17 <sup>B</sup>	47.86±0.23 <sup>BC</sup>

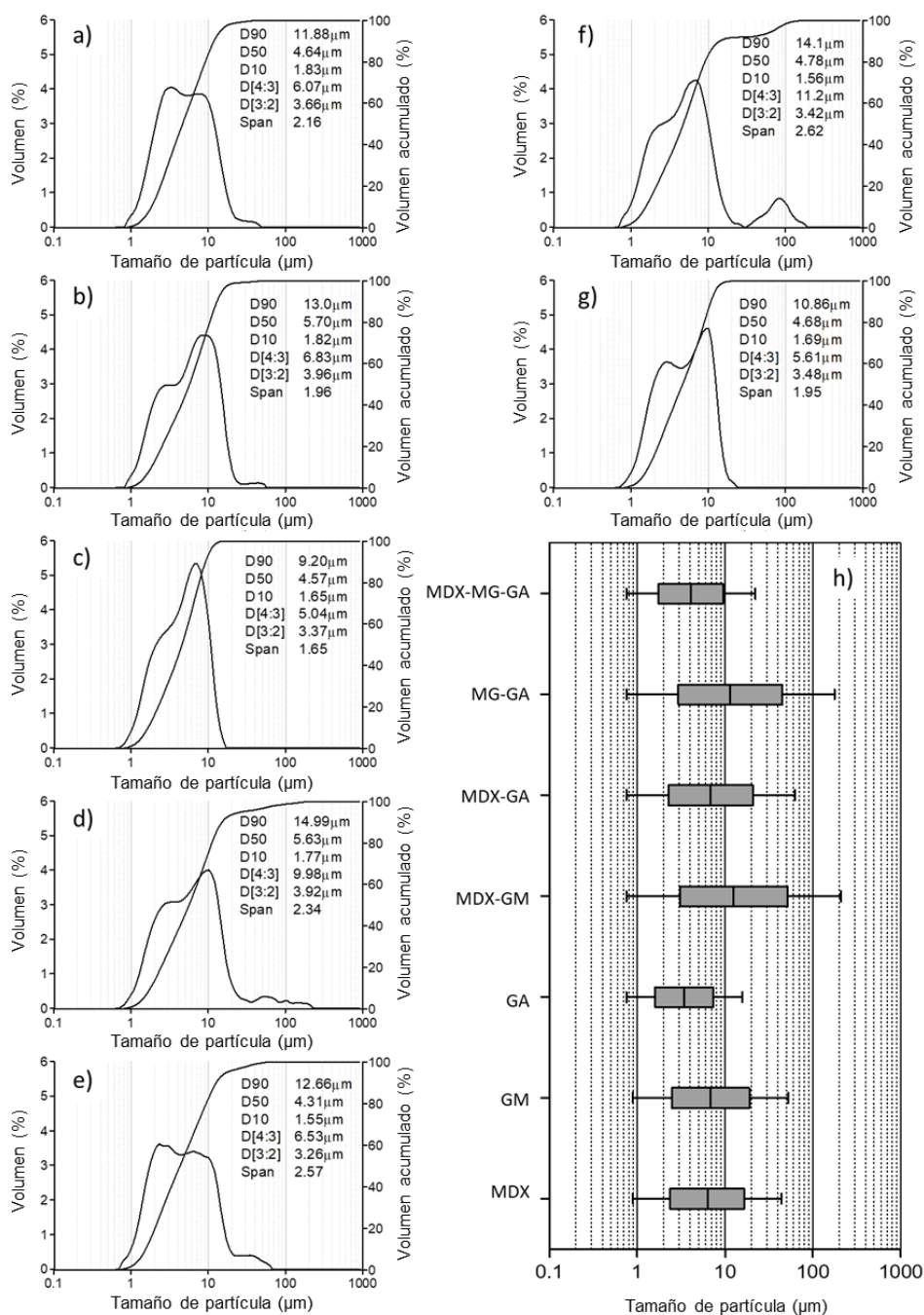
<sup>a</sup> MDX, maltodextrina; <sup>b</sup> GA, goma arábica; <sup>c</sup> MG, goma de mezquite; <sup>d</sup>  $L^*$  (luminosidad); <sup>e</sup>  $a^*$  (diferencia entre rojo y verde); <sup>f</sup>  $b^*$  (diferencia entre azul y amarillo); <sup>g</sup> Hue, tono; <sup>h</sup> Croma, saturación de color; <sup>i</sup> R-I, red-index; ± desviación estándar de n = 2; Superíndices con letra diferente en la misma columna representa diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0.05$ ).

### *Tamaño de las partículas*

El tamaño de partícula de los polvos de jugo fermentado de pitaya se ilustra en la Figura 3. Se puede observar que todos los agentes, incluyendo las mezclas binarias y ternarias, tuvieron distribuciones de tamaño polimodales. Se observó un segundo pico bien definido para la formulación MG-GA (Figura 3f). Las partículas mostraron un amplio rango con diámetros que van desde 0.75 hasta aproximadamente 209.3  $\mu\text{m}$ . El tamaño medio de partícula más pequeño se observó en el polvo con GA ( $D [4,3] = 5.04 \mu\text{m}$ ). El tamaño máximo promedio de partícula fue de alrededor de 11.2  $\mu\text{m}$  para la formulación de polvo MG-GA.

La distribución del tamaño de las partículas fue menor en los polvos de la mezcla ternaria, MG y GA como agentes encapsulantes. Se observó un pico de menor tamaño de partícula en los polvos con MDX y MDX-GA.





**Figura 3.** Tamaño de partícula del polvo obtenido de las diferentes formulaciones de jugo de pitaya hidrolizado por fermentación a) MDX, b) MG, c) GA, d) MDX-MG, e) MDX-GA, f) MG-GA, g) MDX-MG-GA, h) Boxplots del tamaño de partícula (los cuartiles inferior y superior aparecen como una caja, y los valores mínimos y máximos como bigotes).

### *Compuestos bioactivos de los pigmentos microencapsulados*

#### *Betalainas totales*

La Tabla 5 muestra los compuestos bioactivos de los polvos de jugo de pitaya fermentado. La cantidad total de betalainas osciló entre 2.92 y 3.28 mg/g de polvo en base seca (bs). El modelo polinómico no se ajustó bien a los datos experimentales ( $R^2 = 0.750$ ), indicando que el modelo sólo explica el 75 % de los valores experimentales (Figura 1f, Figura 2, Tabla 3). Se observó menor contenido de betalainas en los polvos con MDX, MDX-GA y MDX-MG-GA en comparación con los otros polvos ( $p < 0.05$ ). Por el contrario, se observó una elevada cantidad de betalainas en el polvo de MG-GA.

#### *Compuestos fenólicos*

La Tabla 5 muestra la cantidad de compuestos fenólicos totales en los polvos de jugo de pitaya fermentado. Los compuestos fenólicos totales variaron de 8.01 a 10.77 mg GAE/g de polvo en bs. La gráfica de contorno (Figura 1g) muestra el comportamiento de los compuestos fenólicos de acuerdo con los diferentes agentes de encapsulación. La Figura 2 muestra los valores experimentales ajustados a los valores predichos ( $R^2 = 0.910$ , Tabla 3). Se puede observar que los polvos con MG y MG-GA muestran mayores cantidades de compuestos fenólicos. Por el contrario, los polvos con GA y MDX-MG tuvieron la menor cantidad de compuestos fenólicos ( $p < 0.05$ ).

### *Actividad antioxidante*

Asimismo, la Tabla 5 muestra la actividad antioxidante en los polvos de jugo de pitaya fermentado. En este caso, el modelo polinómico mostró un buen ajuste ( $R^2 = 0.930$ ) con los datos experimentales (Figura 2, Tabla 3). La actividad antioxidante tuvo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los polvos, que podrían depender del material de encapsulación (Tabla 5). Se observaron valores más bajos en la actividad antioxidante en los polvos con GA. Por otro lado, se observó una alta actividad antioxidante en los polvos cuando se añadió MG a la mezcla, siendo las mezclas MG, MG-GA, y la ternaria MDX-MG-GA con aproximadamente 12.40 a 15.05 mg TE/g de polvo en bs. Sólo se observó una ligera reducción de la actividad antioxidante cuando se combinaron MDX y MG (10.70 mg TE/g de polvo en bs) (Figura 1h).

**Tabla 5.** Compuestos bioactivos de los polvos de jugo de pitaya fermentado.

Muestra	Betacianinas totales (mg/g bs) <sup>d</sup>	Betaxantinas totales (mg/g bs)	Betalainas totales (mg/g bs)	Compuestos fenólicos totales (mg GAE/g bs)	Actividad antioxidante (mg TE/g bs)
MDX <sup>a</sup>	1.09 ± 0.03 <sup>B</sup>	1.84 ± 0.07 <sup>B</sup>	2.94 ± 0.10 <sup>B</sup>	8.66 ± 0.02 <sup>BC</sup>	11.06 ± 1.39 <sup>BC</sup>
MG <sup>b</sup>	1.10 ± 0.01 <sup>AB</sup>	1.90 ± 0.01 <sup>AB</sup>	3.00 ± 0.01 <sup>AB</sup>	10.77 ± 0.18 <sup>A</sup>	12.40 ± 0.65 <sup>AB</sup>
GA <sup>c</sup>	1.12 ± 0.03 <sup>AB</sup>	1.91 ± 0.04 <sup>AB</sup>	3.03 ± 0.06 <sup>AB</sup>	8.19 ± 0.29 <sup>C</sup>	08.96 ± 1.13 <sup>C</sup>
MDX-MG	1.10 ± 0.01 <sup>AB</sup>	1.88 ± 0.01 <sup>AB</sup>	2.99 ± 0.01 <sup>AB</sup>	8.01 ± 0.30 <sup>C</sup>	10.70 ± 0.03 <sup>BC</sup>
MDX-GA	1.07 ± 0.01 <sup>B</sup>	1.84 ± 0.02 <sup>B</sup>	2.92 ± 0.03 <sup>B</sup>	9.30 ± 0.18 <sup>ABC</sup>	13.09 ± 0.21 <sup>AB</sup>
MG-GA	1.21 ± 0.02 <sup>A</sup>	2.07 ± 0.06 <sup>A</sup>	3.28 ± 0.09 <sup>A</sup>	9.81 ± 0.33 <sup>AB</sup>	14.76 ± 0.50 <sup>A</sup>
MDX-MG-GA	1.07 ± 0.07 <sup>B</sup>	1.85 ± 0.13 <sup>B</sup>	2.92 ± 0.20 <sup>B</sup>	8.74 ± 0.83 <sup>BC</sup>	15.05 ± 0.09 <sup>A</sup>

<sup>a</sup> MDX, maltodextrina; <sup>b</sup> GA, goma arábica; <sup>c</sup> MG, goma de mesquite; <sup>d</sup> bs, base seca; ± desviación estándar de n=2; Superíndices con letra diferente en la misma columna representa diferencias significativas entre formulaciones ( $p < 0.05$ ).

## Discusión

La fermentación permite el consumo de la mayoría de los azúcares reductores/fermentables, con una reducción inherente de los sólidos solubles totales. La fermentación también permite la reducción de la viscosidad, lo que podría optimizar el proceso de secado por aspersión al evitar la obstrucción de la boquilla (Sun-Waterhouse & Waterhouse, 2015). El color rojo característico de la fruta, una vez que se sometió a fermentación permaneció; sin embargo, difiere del jugo no fermentado reportado por otros autores (García-Cruz et al., 2013; García-Cruz et al., 2017). El jugo fermentado fue rico en compuestos antioxidantes como betalaínas, contuvo una menor cantidad de betaxantinas en comparación con las betacianinas, similar a la fruta no fermentada reportada por García-Cruz et al. (2013); sin embargo, el proceso de fermentación podría reducir la cantidad de estos compuestos (García-Cruz et al., 2013). El jugo de pitaya fermentado tuvo una cantidad total de betalaínas similar a las pulpas de pitayas de *Stenocereus pruinosus* (García-Cruz et al., 2013), *Stenocereus stellatus* (Pérez-Loredo et al., 2016).

**Rendimiento:** El rendimiento de los pigmentos encapsulados fue superior al 50 % y similar a los obtenidos para el jugo de remolacha atomizado con mezclas de GA y MDX de diferentes equivalentes de dextrosa (Bazaria & Kumar, 2017). Se observa una disminución en el rendimiento del polvo con el uso de MDX y MG. La reducción del rendimiento podría atribuirse a un proceso de secado deficiente y a la adhesión de gotas a la pared de la cámara de secado. Es importante mencionar que algunos investigadores sugieren que rendimientos de hasta el 50 % obtenidos mediante secado por aspersión, se consideraran como un proceso eficiente (García-Lucas et al., 2017). Coimbra et al. (2020) señalaron que pueden ocurrir tres

tipos de interacciones entre el agente de encapsulación y el agente activo; estas son: i) la interacciones polímero-compuestos bioactivos, ii) la interacción polímero-polímero, y iii) el efecto sinérgico entre dos o más polímeros para obtener mejores propiedades fisicoquímicas. Debido a que cada agente tiene propiedades únicas podría explicar cómo las mezclas de gomas, como MDX:GA y MG:GA, tuvieron los mayores rendimientos.

***Humedad:*** Las diferencias en el contenido de humedad se pueden atribuir a los diferentes gradientes de temperatura entre el líquido atomizado y el aire caliente, ya que el tamaño de las gotas atomizadas depende de las diferencias en la viscosidad del líquido y del peso molecular causado por los materiales de encapsulación. García-Lucas et al. (2017) señalaron que los contenidos de humedad por debajo del 4 % eran seguros desde el punto de vista químico y microbiológico en extractos encapsulados provenientes de fruta. La mayoría de los valores obtenidos en esta investigación se pueden clasificar como seguros y estables (Tabla 2) sobre las reacciones fisicoquímicas y el crecimiento microbiano.

***Actividad del agua ( $a_w$ ):*** Los valores de actividad de agua del polvo por debajo de 0.6 pueden considerarse estables (da Silva et al., 2013). Las diferencias en los valores de  $a_w$  se debe a la diferencia en la estructura molecular de los agentes de encapsulación, en particular debido a las ramificaciones y los grupos funcionales hidrofílicos (Akhavan Mahdavi et al., 2016). La mezcla de diferentes agentes de encapsulación a la mezcla podría disminuir los valores de  $a_w$ . Dando como resultado que los valores de  $a_w$  más bajos prolongarían la vida útil de los pigmentos encapsulados.

**Densidades de los polvos:** El comportamiento de la densidad (donde el valor más bajo corresponde a MDX y el más alto a GA) obtenido en este trabajo fue observado previamente por Mahdavee Khazaei et al. (2014) en la encapsulación de jugo de pétalos de azafrán con MDX 7DE y GA. Con respecto a la densidad compacta, en presencia de MDX, el aire en el interior de las partículas podría expandirse (Utpott et al., 2020); en consecuencia, puede producirse una reducción de la densidad, lo que explica el comportamiento de la densidad compacta. Por otro lado, todas las formulaciones de polvos que contienen MG, como parte de la mezcla encapsulante, tuvieron densidades similares, con la excepción de la combinación ternaria.

**Color de los polvos:** Tanto los valores  $a^*$  como  $b^*$  de los polvos fueron positivos; lo que significa que se ubican en el primer cuadrante del espacio de color CIELab (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017; Ochoa-Velasco et al., 2017). Los polvos obtenidos en este trabajo tuvieron un color más claro (menores valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y *Croma*) en comparación con los obtenidos por García-Lucas et al. (2017) para el jugo de pitaya encapsulado con MDX y pectina a diferentes temperaturas. Sin embargo, ellos recolectaron el polvo en el ciclón y el polvo adherido a la cámara de secado, el cual es expuesto a altas temperaturas durante más tiempo; por lo que muy probablemente los polvos se oscurecieron debido a algunas reacciones como la caramelización. Por otro lado, tanto *Croma* como *Hue* no toman en cuenta los valores de  $L^*$ , se utilizó el valor de *red-index*; ya que, los valores de  $L^*$  son el parámetro con un cambio más evidente, en comparación con el valor  $L^*$  del jugo. La reducción del *red-index* se debe a la dilución del color a causa de los agentes de encapsulación blanco-crema.

**Tamaño de las partículas:** Todas las formulaciones presentan una distribución en el tamaño de partícula diferente, lo que se reflejó en múltiples picos en el gráfico (distribución polimodal). Los picos secundarios en la formulación MG-GA son característicos de partículas aglomeradas. Algunos autores sugieren que las micropartículas más grandes podrían retener mejor los pigmentos (Garrido Makinistian et al., 2020). La aglomeración de los polvos da lugar a un aumento del tamaño medio de las partículas, especialmente cuando se utilizan dos agentes combinados como materiales de encapsulación. La menor distribución de tamaños (span) indica que estos son más homogéneos y, en consecuencia, proporcionan mejores propiedades de dispersabilidad (Ding et al., 2020), lo que se logró con la mezcla ternaria, MG y GA. Por otra parte, algunos reportes sugieren que la reducción del tamaño de las partículas en los polvos podría mejorar la solubilidad y la biodisponibilidad debido a la mayor superficie (Vasile et al., 2020). No obstante, partículas muy pequeñas y una gran área superficial podrían aumentar la interacción molecular del compuesto activo y con ello producirse una degradación de los compuestos encapsulados (Otálora et al., 2018).

**Compuestos bioactivos:** Se determinaron los compuestos bioactivos en los polvos obtenidos. El contenido de betalaínas de todas las muestras obtenidas en este trabajo fue similar al reportado por Bazarria & Kumar (2016) en la encapsulación de jugo concentrado de remolacha con proteína de suero. Sin embargo, un aumento en el contenido de betalaínas en MG-GA puede indicar que la mezcla de ambos agentes encapsulantes podría proteger mejor los pigmentos que utilizando sólo un agente encapsulante. En comparación con AG, utilizado para la elaboración de polvos, el agente MG sólo se ha utilizado agente encapsulante

para pocos compuestos; por ejemplo, para prevenir la oxidación del aceite de piel de naranja (Beristain et al., 2002). La MG, en combinación con la zeína, es una buena combinación para encapsular extractos de semillas de uva (Davidov-Pardo et al., 2013). Jiménez-Aguilar et al. (2011) utilizaron la MG para evitar las pérdidas de antocianinas de arándano. Pero los resultados indicaron que la MG podría ser utilizada como sustituto del GA con la ventaja de ser más barato.

Junto con las betalaínas podrían coexistir otros compuestos fenólicos en la misma muestra. Como resultado, la cantidad de compuestos fenólicos fue mayor que las betalaínas, y podría ser debido a compuestos en el jugo o los formados durante la fermentación (Hur et al., 2014) o algunas interferencias como el ácido ascórbico (Sánchez-Rangel et al., 2013). La diferencia en la pérdida de compuestos fenólicos (en las muestras de polvo) podría atribuirse a la contribución de cada agente de encapsulación a la temperatura de transición vítrea de la mezcla de encapsulación, y a un cambio inherente en la capacidad térmica que afecta a la velocidad de secado (Ghosh Dastidar & Chakrabarti, 2019). Además, algunos investigadores han sugerido que los procesos térmicos podrían inducir la alteración de la estructura molecular de los compuestos fenólicos, lo que podría causar su degradación (Bazaria & Kumar, 2016; Kuhn et al., 2020). Esta degradación se evidencia en la actividad antioxidante. Se puede observar que los compuestos fenólicos influyen más en la actividad antioxidante que las betalaínas. Las diferencias entre las mezclas podrían atribuirse a las interacciones de los grupos funcionales, a las estructuras moleculares y a la ramificación que puede contribuir a la estabilidad de los compuestos (Zhang et al., 2020). Estudios recientes mencionan que la MG contiene un alto contenido de fitoquímicos presentes de forma natural en la goma en



comparación con la GA, mostrando una mejor actividad antioxidante (Vasile et al., 2019), y contribuye a la actividad antioxidante final de las muestras encapsuladas con MG.

## Conclusión

La microencapsulación del jugo fermentado de pitaya roja mediante secado por aspersión utilizando goma de mezquite, goma arábica y maltodextrina como materiales encapsulantes permite la obtención de polvos. Se obtuvieron altos rendimientos para todas las formulaciones (64-84 %). El uso de un diseño *simplex-lattice* mostró diferencias en las combinaciones de agentes encapsulantes. Todos los polvos obtenidos son microbiológica y químicamente estables debido a los bajos valores de humedad y  $a_w$  ( $< 6\%$  y  $< 0.208$ , respectivamente). Los polvos conservaron el color del jugo fermentado y concentrado, y podrían utilizarse como colorante en los alimentos. Las microcápsulas retienen los compuestos bioactivos. Las betaxantinas se encontraron en mayor cantidad en comparación con las betacianinas. La actividad antioxidante estuvo regida especialmente por otros compuestos fenólicos más que por las betalaínas. Es necesario realizar más estudios para evaluar el potencial de los polvos como colorantes aplicados en sistemas alimentarios.

## Agradecimientos

El autor Jiménez-González agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México por el apoyo financiero para sus estudios de doctorado.

## Conflicto de intereses

Los autores declararon no tener ningún conflicto de interés potencial con respecto a la investigación, la autoría y/o la publicación de este artículo.

## Referencias

- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, *181*, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003>
- Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *73*(3), 914–922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
- Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016). Microencapsulation of Oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications: encapsulation of marine, vegetable, essential oils.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *15*(1), 143–182. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12179>
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, *218*, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>

- Bazaria, B., & Kumar, P. (2016). Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate. *Food Bioscience*, *14*, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.002>
- Bazaria, B., & Kumar, P. (2017). Effect of dextrose equivalency of maltodextrin together with arabic gum on properties of encapsulated beetroot juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *11*(1), 156–163. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9382-4>
- Beristain, C. I., Azuara, E., & Vernon-Carter, E. J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis juliflora*) as wall material. *Journal of Food Science*, *67*(1), 206–211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11385.x>
- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich Foods. *Drying Technology*, *15*(2), 671–684. <https://doi.org/10.1080/07373939708917253>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Castro-Enríquez, D. D., Montaña-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millán, E., López-Ahumada, G. A., Barreras-Urbina, C. G., Tapia-Hernández, J. A., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Effect of ultrafiltration of pitaya extract (*Stenocereus thurberi*) on its phytochemical content, antioxidant capacity, and UPLC-DAD-MS profile. *Molecules*, *25*(2), 281. <https://doi.org/10.3390/molecules25020281>
- Chandrasekhar, J., Sonika, G., Madhusudhan, M. C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Differential partitioning of betacyanins and betaxanthins employing aqueous two phase extraction. *Journal of Food Engineering*, *144*, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.018>
- Choo, W. S. (2018). Betalains: Application in Functional Foods. In J.-M. Merillon & K. G. Ramawat (Eds.), *Sweeteners* (pp. 1–28). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-54528-8\\_38-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-54528-8_38-2)
- Coimbra, P. P. S., Cardoso, F. de S. N., & Gonçalves, É. C. B. de A. (2020). Spray-drying wall materials: Relationship with bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1786354>
- da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., Balieiro, J. C. de C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioproducts Processing*, *91*(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.006>

- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I., & Marín-Arroyo, M. R. (2013). Optimization of a wall material formulation to microencapsulate a grape seed extract using a mixture design of experiments. *Food and Bioprocess Technology*, 6(4), 941–951. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0848-z>
- Delgado-Vargas, F. (2002). *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses* (0 ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420031713>
- Ding, Z., Tao, T., Wang, X., Prakash, S., Zhao, Y., Han, J., & Wang, Z. (2020). Influences of different carbohydrates as wall material on powder characteristics, encapsulation efficiency, stability and degradation kinetics of microencapsulated lutein by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(7), 2872–2882. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14544>
- García-Cruz, L., Dueñas, M., Santos-Buelgas, C., Valle-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. (2017). Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. Pruinusus* and *S. stellatus*). *Food Chemistry*, 234, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.174>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Joaquín-Cruz, E. (2013). Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0391-8>
- García-Lucas, K. A., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., Campanella, O. H., Patel, B. K., & Barriada-Bernal, L. G. (2017). Physical properties of spray dried *Stenocereus griseus* pitaya juice powder. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12470. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12470>
- Garrido Makinistian, F., Gallo, L., Sette, P., Salvatori, D., & Bucalá, V. (2020). Nutraceutical tablets from maqui berry (*Aristotelia chilensis*) spray-dried powders with high antioxidant levels. *Drying Technology*, 38(9), 1231–1242. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1629589>
- Ghosh Dastidar, D., & Chakrabarti, G. (2019). Thermoresponsive Drug Delivery Systems, Characterization and Application. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* (pp. 133–155). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814029-1.00006-5>
- Herbach, K. M., Rohe, M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Research International*, 39(6), 667–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.004>
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I., & Kim, G.-B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>

- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889–894. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.012>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). Extraction, microencapsulation, color properties, and experimental design of natural pigments obtained by spray drying. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 769-811. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7>
- Khan, M. I., & Giridhar, P. (2014). Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in *Rivina humilis* L. berry juice. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2), 649–657. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.027>
- Kuhn, F., Azevedo, E. S., & Noreña, C. P. Z. (2020). Behavior of inulin, polydextrose, and egg albumin as carriers of *Bougainvillea glabra* bracts extract: Rheological performance and powder characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14834>
- Kumar, S. S., & Giridhar, P. (2017). Stabilization of bioactive betalain pigment from fruits of *Basella rubra* L. through maltodextrin encapsulation. *Madridge Journal of Food Technology*, 2(1), 73–77. <https://doi.org/10.18689/mjft-1000111>
- Mahdavee Khazaei, K., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Hemmati Kakhki, A. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.042>
- Ochoa-Velasco, C. E., & Guerrero Beltrán, J. Á. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.020>
- Ochoa-Velasco, C. E., Salazar-González, C., Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2017). Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1747–1756. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2564-1>
- Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2018). Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying: A comparative study. *Food Research International*, 111, 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.058>
- Pérez-Loredo, M. G., García-Ochoa, F., & Barragán-Huerta, B. E. (2016). Comparative analysis of betalain content in *Stenocereus Stellatus* fruits and other cactus fruits using principal component analysis. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 326–338. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1022259>

- Poondla, V., Bandikari, R., Subramanyam, R., & Reddy Obulam, V. S. (2015). Low temperature active pectinases production by *Saccharomyces cerevisiae* isolate and their characterization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.008>
- Quirós, A. M., Acosta, O. G., Thompson, E., & Soto, M. (2019). Effect of ethanolic extraction, thermal vacuum concentration, ultrafiltration, and spray drying on polyphenolic compounds of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schltdl.) by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 42(4). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13051>
- Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüeña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands *Cactaceae* Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312, 126073. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126073>
- Rhim, J. W., Wu, Y., Weller, C. L., & Schnepf, M. (1999). Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. *Journal of Food Science*, 64(1), 149–152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09880.x>
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5(21), 5990. <https://doi.org/10.1039/c3ay41125g>
- Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H., & Gomes, P. S. (2018). Spray Drying: An Overview. In R. Pignatello & T. Musumeci (Eds.), *Biomaterials—Physics and Chemistry—New Edition*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72247>
- Sarı, A., Şahin, H., Özsoy, N., & Özbek Çelik, B. (2019). Phenolic compounds and in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities of *Scorzonera hieraciifolia* Hayek roots. *South African Journal of Botany*, 125, 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.009>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144.
- Sravan Kumar, S., Manoj, P., & Giridhar, P. (2014). A method for red-violet pigments extraction from fruits of Malabar spinach (*Basella rubra*) with enhanced antioxidant potential under fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 3037–3043. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1335-5>
- Sun-Waterhouse, D., & Waterhouse, G. I. N. (2015). Spray-drying of green or gold kiwifruit juice–milk mixtures; novel formulations and processes to retain natural fruit colour

- and antioxidants. *Food and Bioprocess Technology*, 8(1), 191–207. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1397-4>
- Utpott, M., Assis, R. Q., Pagno, C. H., Pereira Krigger, S., Rodrigues, E., de Oliveira Rios, A., & Hickmann Flôres, S. (2020). Evaluation of the use of industrial wastes on the encapsulation of betalains extracted from red pitaya pulp (*Hylocereus polyrhizus*) by spray drying: powder stability and application. *Food and Bioprocess Technology*, 13(11), 1940–1953. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02529-3>
- Vasile, F. E., Romero, A. M., Judis, M. A., Mattalloni, M., Virgolini, M. B., & Mazzobre, M. F. (2019). Phenolics composition, antioxidant properties and toxicological assessment of *Prosopis alba* exudate gum. *Food Chemistry*, 285, 369–379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.003>
- Vasile, M. A., Milea, Ștefania A., Enachi, E., Barbu, V., Cîrciumaru, A., Bahrim, G. E., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2020). Functional enhancement of bioactives from black beans and lactic acid bacteria into an innovative food ingredient by comicroencapsulation. *Food and Bioprocess Technology*, 13(6), 978–987. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02451-8>
- Zhang, J., Zhang, C., Chen, X., & Quek, S. Y. (2020). Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage. *Journal of Food Engineering*, 269, 109744. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109744>

## Capítulo III

### Estabilidad térmica y al pH de pigmentos de *Justicia spicigera* (Muicle):

### Uso de modelos probabilístico-matemáticos para predecir su estabilidad

Oscar Jiménez-González, Aurelio López-Malo, Julio Emmanuel González Perez, Nelly

Ramírez-Corona, José Ángel Guerrero-Beltrán

## Resumen

Los modelos cinéticos y probabilísticos (Tiempo-de-Falla) fueron usados para predecir en la estabilidad del color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , la diferencia neta de color ( $\Delta E$ ), *Hue* y *Croma*) de pigmentos obtenidos de las hojas de *Justicia spicigera* sometidos a diferentes temperaturas (40 – 80 °C) y valores de pH (2 – 12). El cambio en el pH causó diferentes tonalidades o *Hues* (desde 60° = naranja-rojizo a 268° = azul-oscuro) debido al cambio en las estructuras de las antocianinas. Las temperaturas por arriba de 60°C incrementaron la degradación del color. Se observó una alta sensibilidad al calor a pH 4 y 10 ( $E_a = 90.27$  y  $154.99$  kJ/mol, respectivamente). El Tiempo-de-Falla para ambos  $\Delta E$  y *Hue* describió adecuadamente el efecto de la temperatura y el pH en los extractos. Valores de pH y temperaturas altos aplicados a los extractos incrementaron la probabilidad de que se presentara un  $\Delta E > 4$ , o cambios en *Hue* arriba del 20%. Cercanos a la regio neutra en los valores de pH, los pigmentos fueron más estables. El Tiempo-de-Falla puede usarse como una herramienta para describir y predecir el comportamiento de los pigmentos añadidos a alimentos.



## Palabras clave

Muicle (*Justicia spicigera*); Peonidina; Antocianinas; Degradación de pigmentos; Estabilidad de color; Modelos de Tiempo-de-Falla

## Introducción

Hoy en día, el uso de pigmentos naturales en la industria alimentaria ha aumentado. La adición de colorantes o pigmentos en los alimentos puede influir en aspectos sensoriales, y en la decisión e intensidad de compra de los consumidores (Garber et al., 2016). Pigmentos como los carotenoides, la clorofila, las betalaínas y las antocianinas han demostrado poseer múltiples beneficios a la salud debido a sus características antioxidantes (Rodríguez-Amaya, 2016; Rodríguez-Amaya, 2019). Las antocianinas son de los flavonoides coloreados, solubles en agua e inofensivos más importantes (Rajan et al., 2018), estos se encuentran en muchas frutas, verduras y flores. Las antocianinas pueden encontrar en colores rojos, morado o azul (Khoo et al., 2017). Esta característica hace a las antocianinas un potencial pigmento para alimentos y bebidas. Sin embargo, estas son inestables a ciertos factores, como el pH, la temperatura, el oxígeno, la luz, enzimas, azúcares, co-pigmentos, entre otros (Ahmed et al., 2002; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Gençdağ et al., 2022; Rajan et al., 2018). Especialmente, la temperatura y el pH son de los factores más importantes en la estabilidad del color, debido a los cambios en la estructura molecular de las antocianinas (Liu et al., 2018; Loypimai et al., 2016; Roobha et al., 2011). Por un lado, la temperatura puede destruir a las antocianinas cuando esta es muy alta (Liu et al., 2018). Con respecto al pH, este

puede afectar a la estructura de la molécula lo que lleva a tener diferentes tonos (Rakić & Poklar Ulrih, 2021). Sin embargo, algunos cambios en la estructura de las antocianinas causadas por el pH son altamente inestables lo que lleva a la pérdida del color.

El muicle o *Justicia spicigera* es un arbusto de flores naranjas que ha sido usado desde antes de la conquista española, aproximadamente en el siglo XVI (era prehispánica) para colorear textiles o artesanías, además ha mostrado múltiples beneficios a la salud (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017). La decocción de las hojas resulta en un extracto rosa-morado que es rico en polifenoles incluidas las antocianinas (Awad et al., 2015), las cuales una vez concentradas toman un color azul intenso. Estos pigmentos pueden ser utilizados como un colorante natural debido a su amplio rango de tonos (desde rojo hasta azul) (Rajan et al., 2018). Recientemente, estos pigmentos fueron utilizados para incrementar los compuestos bioactivos de tortillas de maíz (Alvarez-Poblano et al., 2020). En otro estudio, los pigmentos fueron adicionados a yogurt y gelatina para obtener alimentos funcionales con colores atractivos (Castro-Alatorre et al., 2021). Además, los pigmentos han sido encapsulados para incrementar su estabilidad y conservar sus compuestos bioactivos (Castro-Alatorre et al., 2021; Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2022; Pavón-García et al., 2011).

Debido a que casi todos los alimentos requieren un tratamiento térmico en cierto punto de su preparación, ya sea para inhibir el crecimiento o reducir la carga microbiana, remover agua, inactivar enzimas, o generar cambios físicos y químicos para hacer a los alimentos comestibles (Liao et al., 2019; Oancea, 2021). Sin embargo, durante el proceso térmico, el color de alimentos o bebidas puede cambiar, reducirse o perderse por completo,

solo por mencionar algunos cambios. Por lo que, la estandarización de color (adición de colorantes) es un paso esencial en la producción de alimentos (Garber et al., 2016). Comúnmente, se utilizan tratamientos isotérmicos para obtener valores experimentales con la intención de determinar los parámetros cinéticos de la degradación de factores en los alimentos y relacionarlos con características como la calidad (Ahmed et al., 2002). Los datos de degradación de color, en general, cumplen con cinéticas de orden cero o primer orden; que han sido estudiadas en diferentes investigaciones (Oancea, 2021); no obstante, los resultados no otorgan suficiente información de cuando un producto debe ser rechazado debido a los bajos estándares de calidad como es un color no apropiado. Por otro lado, el Análisis de sobrevivencia microbiana basado en el modelo de Weibull introducido por Gacula & Singh (1984), estima el tiempo cuando un producto es rechazado basado en parámetros preestablecidos. Este modelo ha sido aplicado para describir la influencia de factores extrínsecos a través del tiempo para detectar el deterioro de alimentos por microorganismos (Kosegarten et al., 2017) o para predecir la vida de anaquel de diferentes alimentos lácteos, carne, cereal y frutas y alimentos donde se usa a los vegetales como ingrediente principal (da Silva Simão et al., 2022; Esmerino et al., 2015; Gambaro et al., 2006; Giménez et al., 2008; Guerra et al., 2008; Hough et al., 2003; Jacobo-Velázquez et al., 2010; Marques et al., 2020; Rasane et al., 2015). Basado en lo anterior, el Análisis de sobrevivencia podría ser usado como una herramienta para predecir el tiempo de vida o la estabilidad de pigmentos cuando estos son sometidos a diferentes condiciones.

Considerando que las antocianinas se encuentran en uso, este trabajo tiene como hipótesis que los métodos matemáticos pueden ser usados como una herramienta útil para la

predicción del tiempo de vida de los pigmentos de *J. spicigera*. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el tiempo de viabilidad de pigmentos de *J. spicigera* cuando estos son sometidos a diferentes valores de pH y temperatura usando cinéticas de primer orden y modelos de Tiempo de Falla.

## **Materiales y Métodos**

### ***Extracción y secado de los pigmentos***

Los extractos de *Justicia spicigera* fueron obtenidos de hojas secas y molidas siguiendo la metodología propuesta por Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán (2017) con algunas modificaciones. La extracción consistió en la maceración del polvo de hojas con etanol al 50% a una relación de 1:83.33 (p/v), por 2 h en oscuridad. La mezcla fue centrifugada (Z 326K, HERMLE Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 6000 rpm (4 °C) por 10 min. El sobrenadante fue concentrado usando un rotavapor (Büchi R-300, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza) a 45 °C y 54 mmHg hasta que se obtuvo la tercera parte del volumen original. Posteriormente, el extracto concentrado fue mezclado con maltodextrina (5% p/v), colocado en bolsas de polietileno, y congelado a -80°C para ser liofilizado (FreeZone, LABCONCO, Kansas, USA) a 0.133 mmHg (-50 °C y 25 °C para la temperatura del condensador y de la cámara, respectivamente) por 48 h. El extracto seco fue molido hasta obtener un polvo fino y mantenido en tubos de plástico sellados en un desecador a temperatura ambiente hasta su uso.

### *Ajuste del pH de las soluciones*

Para obtener diferentes tonos en el color, se agregaron 0.1 g de polvo en 50 mL de buffer McIlvaine a diferentes pHs (2, 4, 8) en tubos de vidrio con tapón hermético de plástico. Las soluciones para los pHs 10 y 12 fueron ajustadas con NaOH 1M. todas las muestras se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante 1 h.

### *Evaluación del color en las soluciones*

Para la determinación del color se utilizó un espectrofotómetro de microplaca Multiskan SkyHigh (Multiskan SkyHigh, Thermoscientific, Singapur, Singapur). Se leyó y registro el espectro visible (400 – 800 nm) a un intervalo constante ( $\Delta\lambda = 1$  nm) para cada muestra usando una microplaca de 96 pocillos. Se utilizó agua destilada como referencia. Los parámetros *CIELab*\* fueron calculados siguiendo el método espectrofotométrico propuesto por APHA et al. (1992) con algunas modificaciones. Brevemente, se calcularon los valores en modo transmitancia para 30 diferentes longitudes de onda para el cálculo de los parámetros X, Y, Z. los valores triestimulo X, Y, Z fueron calculados usando la Ecuación (1).

$$X, Y \text{ or } Z = \sum_{\lambda} T\%(\lambda) \times F \quad (1)$$

Donde  $T\%(\lambda)$  es el valor de la transmitancia para cada longitud de onda y  $F$  es el factor para cada parámetro  $X = 0.03269$ ,  $Y = 0.03333$ , and  $Z = 0.03938$ .

Para convertir X, Y and Z a valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , respectivamente, se usaron las Ecuaciones (2), (3) y (4).

$$L^* = 116 * \left(\frac{Y}{Y_n}\right) - 16 \quad (2)$$

$$a^* = 500 \left[ \left(\frac{X}{X_n}\right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (3)$$

$$b^* = 200 \left[ \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_n}\right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (4)$$

Donde  $X_n$ ,  $Y_n$  y  $Z_n$  son 98.041, 100.000 y 118.103, respectivamente para un iluminante C, observador de  $2^\circ$ , y  $X/X_n$ ,  $Y/Y_n$  y  $Z/Z_n > 0.01$ .

Los valores  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  fueron usados para calcular *Hue* ( $^\circ$ ), *Croma* y  $\Delta E$  con las ecuaciones (5), (6), y (7).

$$Hue = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (5)$$

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (6)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_o^*)^2 + (a^* - a_o^*)^2 + (b^* - b_o^*)^2} \quad (7)$$

Donde  $L_o^*$ ,  $a_o^*$  y  $b_o^*$  son los valores de color a tiempo cero y  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  los valores de color a cualquier tiempo.

### *Estabilidad térmica del color*

La estabilidad térmica fue evaluada a tres temperaturas (40, 60 y 80 °C). Para cada temperatura, todas las soluciones a los diferentes pHs fueron colocadas en un baño termoeléctrico con agua. Se tomaron alícuotas de las diferentes muestras en intervalos de una hora, durante siete horas (0, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 min), cada alícuota se enfrió en un baño de hielo para detener la degradación térmica. Los valores de *Hue* fueron usados como el indicador más confiable para evaluar la degradación del color, dado que estudios previos indican que *Hue* es un parámetro sensible para evaluar la degradación de color en respuesta a la temperatura (Swain et al., 2014), además, es fácil de calcular o puede ser dado por el mismo equipo para la determinación colorimétrica, junto con ello, el valor de *Hue* toma en cuenta las tres regiones de color en el espectro de absorbancia (Cantrell et al., 2010). La cinética de primer orden se realizó a temperatura constante utilizando el termino de conversión fraccional (Ahmed et al., 2002) utilizando la ecuación (8).

$$\frac{C_t - C_E}{C_0 - C_E} = \exp^{-kt} \quad (8)$$

Donde  $C_t$ ,  $C_0$ , y  $C_E$  son los valores de *Hue* al tiempo  $t$ , al tiempo cero y en el infinito;  $k$  es la constante de velocidad ( $\text{min}^{-1}$ ) y  $t$  el tiempo del proceso de calentamiento (min).

Para determinar la tasa de degradación a diferentes temperaturas se utilizó la ecuación de Arrhenius (Loypimai et al., 2016): Ecuaciones (9) y (10).

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (9)$$

$$\ln k = \ln(k_0) - \left(\frac{E_a}{R}\right) \left(\frac{1}{T}\right) \quad (10)$$

Donde  $k_0$  es el factor de frecuencia ( $\text{min}^{-1}$ ),  $E_a$  es la energía de activación (kJ/mol),  $R$  es la constante universal de los gases ideales (8.314 J/mol K) y  $T$  es la temperatura absoluta (K).

La ecuación (9) se linealizó y se graficaron los datos experimentales como el  $\ln k$  vs  $1/T$  de la cual se obtuvo una línea recta donde la pendiente  $E_a/R$  (se usó para determinar  $E_a$ ). debido a que el pigmento es sensible a la temperatura, se calcularon los valores de  $Q_{10}$  utilizando la ecuación (11).

$$Q_{10} = \frac{k_2}{k_1} \quad (11)$$

Donde  $k_1$  y  $k_2$  son las constantes de velocidad a temperatura  $T_1$  y  $T_2$  ( $T_2 = T_1 + 10$  °C), respectivamente.



### ***Predicción del Tiempo-de-Falla (TTF)***

El modelo Tiempo-de-Falla (TTF) es una herramienta estadística basada en el modelo de distribución de Weibull (Zhai et al., 2013). Utiliza datos de series temporales de los fallos de un producto para ajustar una distribución paramétrica. Puede proporcionar información valiosa para optimizar el ciclo de vida de un producto (Zhai et al., 2013). Proporciona la probabilidad de observar valores de tiempo hasta el fallo; por lo tanto, el tiempo de fallo (en minutos) puede definirse como vida útil (Kosegarten et al., 2022). Basándose en el tiempo en el que se producen cambios de al menos el 20% en *Hue* (%*Hue*<sub>20</sub>) o en los valores de  $\Delta E$  mayores o iguales a 4, se puede utilizar un modelo polinómico que describa tanto los cambios de %*Hue*<sub>20</sub> como los de  $\Delta E$  (ecuación 12).

$$\ln(TTF) = \beta_0 + \beta_x x + \beta_y y + \beta_{xy} xy + \beta_{xx} x^2 + \beta_{yy} y^2 \quad (12)$$

Donde TTF es el tiempo en el que %*Hue*<sub>20</sub> o  $\Delta E$  presentan un cambio, considerado como un fallo;  $\beta_{ij}$  son los coeficientes del modelo polinómico,  $x$  y  $y$  son los valores normalizados (valor normalizado = (valor – media)/desviación estándar) de los factores estudiados (valores de pH y temperatura, respectivamente). Todas las variables e interacciones se utilizaron para construir el modelo TTF.

### *Análisis estadístico*

La extracción de *Justicia spicigera* se hizo por duplicado, los ajustes de pH y estabilidad térmica junto con la determinación del color se hicieron por triplicado para cada extracto obtenido. Los resultados se prestaron como la media con su desviación estándar. Los datos se analizaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA) usando el programa estadístico Statistix (8.1). Para determinar la diferencia entre medias se realizaron pruebas de Tukey ( $p < 0.05$ ). La regresión del modelo de Tiempo-de-Falla se realizó utilizando el software Minitab 16.

## **Resultados y discusión**

### *Color de las soluciones al tiempo cero*

El color inicial de la solución antes de la liofilización era de color púrpura intenso, una vez disuelta sin ajuste de pH el color era claro con  $L^* = 80.26 \pm 0.26$ ,  $a^* = 1.88 \pm 0.09$ ,  $b^* = -5.69 \pm 0.13$ ,  $Croma = 5.99 \pm 0.15$ ,  $Hue = 288.30 \pm 0.61$  y  $\lambda_{max} = 590$ . Los valores de color de las soluciones de *J. spicigera* a diferentes pHs se muestran en la Tabla 1. Los colores iniciales observados en las soluciones de *J. spicigera* ajustadas a diferentes pHs fueron: naranja rojizo ( $60.4 \pm 0.48$ ), rojo anaranjado ( $59.56 \pm 0.44$ ) que se encuentran en el primer cuadrante (tonos de rojo a amarillo) de la rueda de colores con valores positivos de  $a^*$  y  $b^*$ . Con el aumento de los valores de pH (pH 8 y 10), el púrpura ( $296.28 \pm 0.05$ ), el azul-violeta ( $275.59 \pm 0.27$ ), cambian de cuadrante al cuarto (colores, azul a rojo) con  $a^*$  positivo y  $b^*$  negativo. Por último, para el pH alcalino, se obtuvo el color azul más intenso ( $268.15 \pm 0.83$ ),

los valores se situaron en el tercer cuadrante (de verde a azul) con  $a^*$  y  $b^*$  negativos. Además, se observó un color más luminoso en los pH más bajos (2 y 4) y disminuyó sobre el pH 8.

El cambio de color debido al pH fue observado por otros autores para diferentes tipos de antocianinas (Khoo et al., 2017; Rakić & Poklar Ulrih, 2021). Se ha informado de que *J. spicigera* contiene al menos doce tipos diferentes de antocianinas; la peonidina 3,5-diglucósido y la malvidina 3,5-diglucósido fueron las más abundantes (Awad et al., 2015). En concreto, la peonidina es estable a pH alcalino y presenta colores azules (Rajan et al., 2018), como se ha visto en la naturaleza. El color azul de algunas flores que crecen en suelos alcalinos se debe a la presencia de peonidina (Rajan et al., 2018); por el contrario, esta misma antocianina está presente en frutos de color rojo-violáceo a bajo pH (Cho et al., 2004) lo que explica los cambios observados en los extractos a diferentes niveles de pH.

**Tabla 1.** Valores iniciales de los parámetros de color de los extractos de *J. spicigera* ajustados a diferentes pHs <sup>a</sup>.

T(°C), pH	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Croma	Hue (°)	$\lambda_{\max}$
2	91.32 ± 0.08a	3.79 ± 0.11b	6.68 ± 0.33a	7.68 ± 0.34a	60.40 ± 0.48d	471
4	91.00 ± 0.23a	4.41 ± 0.30a	7.50 ± 0.38a	8.70 ± 0.48a	59.56 ± 0.44d	487
22	86.00 ± 0.04c	2.17 ± 0.06c	-4.39 ± 0.12c	4.90 ± 0.14b	296.28 ± 0.05a	589
10	85.82 ± 0.04c	0.31 ± 0.02d	-3.16 ± 0.06b	3.17 ± 0.06c	275.59 ± 0.27b	589
12	87.92 ± 0.25b	-0.11 ± 0.04d	-3.30 ± 0.11b	3.30 ± 0.11c	268.15 ± 0.83c	590

<sup>a</sup> Letra minúscula similares en la misma columna indica diferencias no significativas ( $p < 0.05$ ) a los diferentes valores de pH.

Al mismo tiempo, el color puede describirse como la forma en que la luz es absorbida y transmitida a través de un medio. Por lo tanto, la longitud de onda con máxima absorción ( $\lambda_{\max}$ ) en los rangos visibles del espectro electromagnético indica el color. Los cambios en el espectro UV-Vis están relacionados con los cambios en la estructura molecular

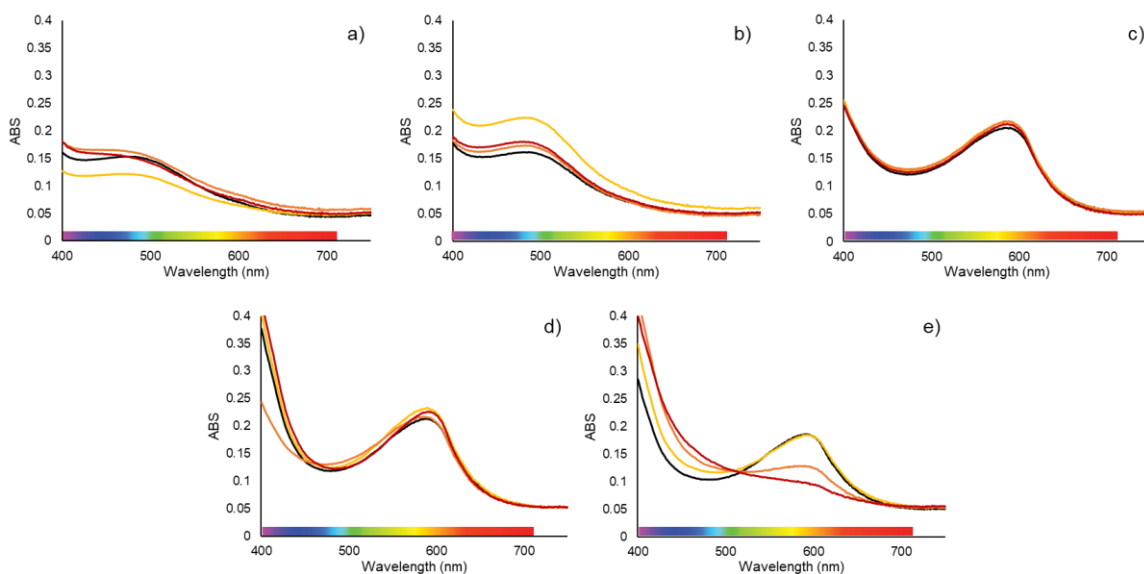
debidos a la variación del pH. La Figura 1 muestra los espectros de las soluciones de *J. spicigera* ajustadas a pHs 2, 4, 8, 10 y 12.

Rajan et al. (2018) han señalado que a pHs bajos (1, 2 y 4) predomina la forma de base quinoidal. En la Figura 1, tanto a pHs 2 (Figura 1a) como 4 (Figura 1b), se observan máximos de absorción a 471 y 487 nm (Tabla 1), respectivamente, correspondientes a la absorción de la región azul-verde del espectro electromagnético que podría aparecer/observarse como color rojo por los ojos humanos. El color rojo anaranjado pálido estaba cerca de los 60° de *Hue* (Tabla 1). A medida que el pH disminuye, el *Croma* o la saturación también disminuyen.

Por otro lado, el color de la solución de *J. spicigera* a pHs cercanos a los valores neutros (~8) se convirtió en un color púrpura azulado, con una absorción máxima de 589 nm (Figura 1c, Tabla 1). A este pH, en la peonidina predomina la formación de chalconas y algunas bases quinoidales (Rajan et al., 2018). A pesar de que otras antocianinas como la malvidina presentan la forma de base quinoidal aniónica a este pH (Habtemariam, 2019). Otros autores señalan, que la presencia de múltiples antocianinas en diferentes concentraciones, junto con la forma molecular (glicosilada o acilada), o los isómeros influye en el color final (tono), a pesar de que el extracto contiene las mismas antocianinas (Moreno & Peinado, 2012), lo que podría explicar el color morado final.

Al aumentar el pH a condiciones básicas (pHs 10 y 12), el color cambia a un color azul intenso (~ 589.5) (Figura 1d y 1e) con una ligera reducción del *Croma* y la luminosidad (Tabla 1). A estos pHs, la forma predominante de la mayoría de las antocianinas son las chalconas. Sin embargo, en el caso de la peonidina, tanto las bases quinoidales como

las chalconas existen en medio alcalino (Rajan et al., 2018), que imparten el púrpura azulado y el azul.



**Figura 1.** Efecto del pH y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en el espectro (400 – 750 nm) de las soluciones de *Justicia spicigera* a diferentes pHs: a) 2, b) 4, c) 8, d) 10, e) 12 y temperaturas (después 420 min): 40  $^{\circ}\text{C}$  (línea amarilla), 60  $^{\circ}\text{C}$  (línea naranja) y 80  $^{\circ}\text{C}$  (línea roja). La línea negra corresponde a los valores iniciales en el espectro una vez que el pH se ajustó a temperatura ambiente.

### *Cambios en el color debido a la temperatura*

La degradación térmica de los pigmentos de *J. spicigera* se evaluó a 40, 60 y 80  $^{\circ}\text{C}$ . Los cambios de color se observaron principalmente en los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$ , correspondientes al verde-rojo y al azul-amarillo, respectivamente, en el espacio de color. La Figura 2 (Tabla 2) muestra el efecto de la temperatura en las soluciones de *J. spicigera* a diferentes pH. La mayor dispersión de los puntos indica un cambio de color pronunciado con

respecto al color a tiempo cero (Figura 2 a-c). Se puede observar que los cambios de color toman diferentes tendencias, dependiendo del pH (Figura 2 a-c):

i) A pH 2 (Figura 2, Tabla 2), los cambios en los parámetros de color en el extracto de *J. spicigera* fueron menos evidentes, especialmente a 40 °C. Los valores de  $a^*$  se situaron entre 2 y 4 y los de  $b^*$  entre 5 y 8. Se produjo una ligera disminución del parámetro  $a^*$  con una diferencia no significativa ( $p > 0.05$ ) dentro de las temperaturas; sin embargo, se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al color inicial (Figura 2d, Tabla 1), lo que indica una pérdida de color rojo. Por el contrario, los valores de  $b^*$  aumentaron, especialmente a 60 y 80 °C; sin embargo, no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) a 40 °C. Como resultado del cambio en el espectro UV-Vis, el tratamiento a 40 °C indujo un efecto hipocrómico o pérdida de color; los tratamientos a 60 y 80 °C (Figura 1a) indujeron un efecto hiperocrómico y un cambio batocrómico que podría deberse a la deprotonación de los compuestos fenólicos y a la formación de chalconas con color rojo-marrón (Ngamwonglumlert et al., 2020; Roobha et al., 2011; Sadilova et al., 2006).

ii) Los cambios de color en el extracto de *J. spicigera* a pH 4 (Figura 2, Tabla 2) fueron similares a los del pH 2. Se observó una reducción de  $a^*$  (solo significativa ( $p < 0.05$ ) para 40 °C) y un aumento de la intensidad de  $b^*$  (significativo ( $p < 0.05$ ) para todas las temperaturas). Estos cambios son el resultado de un aumento de los valores de absorción en el espectro UV-Vis (Figura 1b), lo que provoca un efecto hiperocrómico. Este efecto podría deberse probablemente a la formación de complejos de antocianinas con otros compuestos, que conducen a la formación de moléculas coloreadas (Gençdağ et al., 2022), o a la formación de chalconas de color rojo-marrón. El aumento de la temperatura también puede conducir a

la degradación de las estructuras de las antocianinas (Oancea, 2021; Roobha et al., 2011; Sadilova et al., 2006) causando una posible deglucosilación y una escisión de la molécula (Patras et al., 2010).

iii) El color de las soluciones de *J. spicigera* a pH 8 (Figura 2, Tabla 2) fue el más estable de todos los pH. A diferencia de otros tipos de antocianinas como la cianidina, la delphinidina y la pelargonidina, la peonidina tiene una alta estabilidad a pH neutro o incluso superior (Khoo et al., 2017; Rajan et al., 2018). Los cambios en los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$  (Tabla 2) fueron mayores a 80 °C: de 2.17 (Tabla 1) a 1.41 (Tabla 2) y de -4.39 (Tabla 1) a -1.82 (Tabla 2), respectivamente; sin embargo, el *Hue* se mantiene cerca de 300°, que corresponde al color púrpura. Se observó un ligero cambio en los espectros (Figura 1c), pero casi superpuesto, lo que demuestra que a este pH el cambio de color fue mínimo, por lo que esta condición fue la más termorresistente.

iv) Tanto el pH 10 como el 12 mostraron un comportamiento similar en las soluciones de *J. spicigera*. Los valores iniciales (Figura 2d, Tabla 1) se situaron en el cuarto cuadrante (rojo-azul) del espacio de color; después del tratamiento térmico los parámetros de color ( $a^*$  y  $b^*$ ) pasaron al tercer (azul-verde) y segundo cuadrante (verde-amarillo) (Figura 2e, Tabla 2). Para el pH 10 a 40 °C el color permanece relativamente igual (Figura 2a, Tablas 1, 2). A 60 y 80 °C (Figura 2 b-c) el color cambia a un azul pálido y a un amarillo pardo, respectivamente. Finalmente, para el valor de pH 12, el color cambia drásticamente a las tres temperaturas evaluadas, especialmente a las más altas (Figura 2c y e, Tabla 2). Para 80 °C (Tabla 2), el color final fue amarillo-marrón ( $Hue = 93.03 \pm 0.05^\circ$ ) mostrando un alto valor de *Croma* ( $27.32 \pm 0.33$ ). Para 60 °C, el *Hue* y el *Croma* fueron  $97.12^\circ$  y  $24.23$ ,

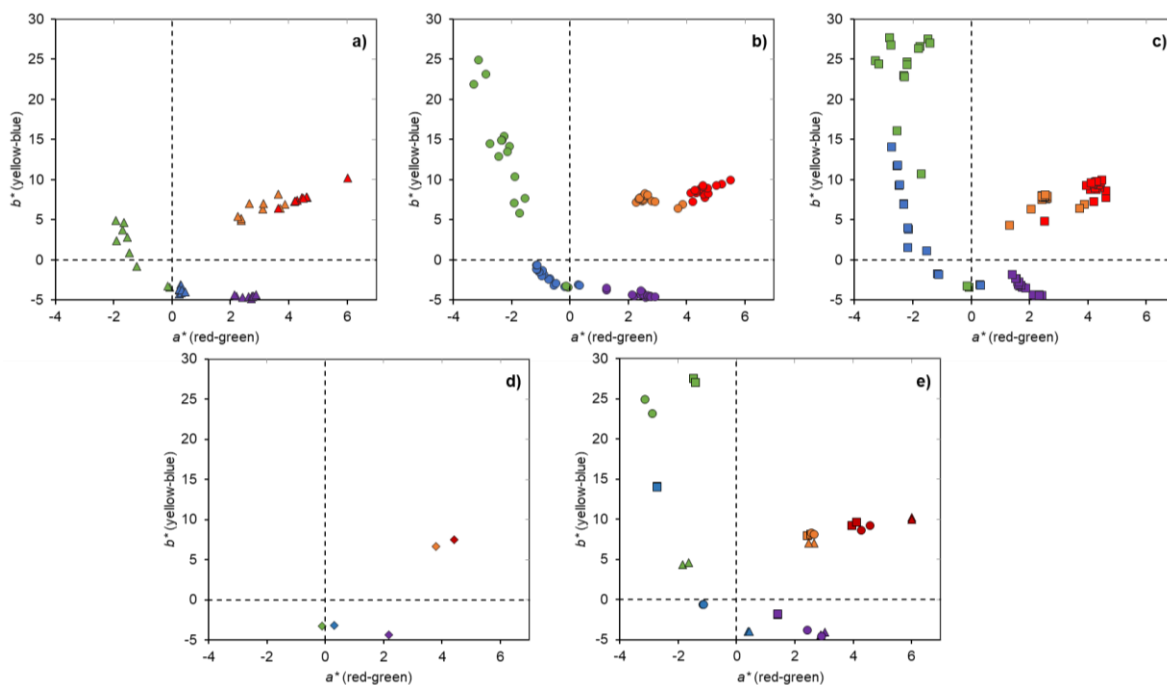
respectivamente (Tabla 2). El espectro UV-Vis muestra un aumento de las absorbancias cerca de 400 nm y una clara reducción de 600 nm que era el  $\lambda_{max}$  (Figura 1e, Tabla 1). De acuerdo con el espectro, un aumento de la absorción en la región UV resultará en la formación de compuestos incoloros degradados (Ngamwonglumlert et al., 2020).

**Tabla 2.** Valores finales para los parámetros de color de los extractos de *J. spicigera* ajustados a diferentes valores de pH después del procesamiento térmico durante 420 min <sup>a</sup>.

T(°C)	pH	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	<i>Croma</i>	<i>Hue</i> (°)	$\Delta E$ <sup>b</sup>
40	2	89.44 ± 0.62bA	2.58 ± 0.11cA	7.00 ± 0.00bB	7.46 ± 0.04bB	69.81 ± 0.76dB	2.25
	4	88.13 ± 0.18bB	6.01 ± 0.01aA	10.12 ± 0.17aA	11.77 ± 0.15aA	59.29 ± 0.36eC	4.20
	8	85.65 ± 0.23cA	2.77 ± 0.08bA	-4.52 ± 0.20dB	5.30 ± 0.12cA	301.58 ± 1.98aAB	1.14
	10	84.94 ± 0.09cB	0.43 ± 0.04dA	-3.99 ± 0.01dC	4.02 ± 0.00dB	276.09 ± 0.53bA	1.26
	12	89.98 ± 0.37aA	-1.92 ± 0.12eA	4.63 ± 0.17cC	4.83 ± 0.11cB	110.84 ± 1.99cA	8.85
60	2	89.59 ± 1.02aA	2.62 ± 0.07bA	8.2 ± 0.09bA	8.6 ± 0.07bA	72.28 ± 0.63dAB	2.58
	4	90.21 ± 0.17aA	4.42 ± 0.21aB	8.94 ± 0.42bA	9.97 ± 0.47bB	63.71 ± 0.03eB	1.64
	8	85.44 ± 1.16bA	2.67 ± 0.34bA	-4.21 ± 0.54dB	4.99 ± 0.64cA	302.36 ± 0.00aB	0.77
	10	87.78 ± 0.28abA	-1.14 ± 0.02cB	-0.62 ± 0.01cB	1.3 ± 0.01dC	208.7 ± 0.79bB	3.52
	12	87.78 ± 0.34abB	-3.01 ± 0.19dB	24.04 ± 1.22aB	24.23 ± 1.23aA	97.12 ± 0.08cB	27.50
80	2	91.65 ± 0.13aA	2.48 ± 0.08bA	8.04 ± 0.1dA	8.41 ± 0.12dA	72.87 ± 0.33dA	1.92
	4	90.33 ± 0.00bA	4.04 ± 0.11aB	9.44 ± 0.27cA	10.27 ± 0.29cB	66.86 ± 0.01eA	2.09
	8	86.35 ± 0.17cA	1.41 ± 0.01cB	-1.82 ± 0.02eA	2.3 ± 0.02eB	307.75 ± 0.14aA	2.71
	10	84.97 ± 0.09dB	-2.72 ± 0.01eC	14.07 ± 0.04bA	14.33 ± 0.03bA	100.96 ± 0.03bC	17.51
	12	85.54 ± 0.10eC	-1.44 ± 0.04dA	27.28 ± 0.33aA	27.32 ± 0.33aA	93.03 ± 0.05cB	30.70

<sup>a</sup> Letras minúsculas en la misma columna para la misma temperatura indican diferencias no significativas ( $p < 0.05$ ) entre los pH. Letras mayúsculas en la misma columna para el mismo pH indican diferencias no significativas ( $p < 0.05$ ) entre temperaturas. <sup>b</sup>  $\Delta E$  valores fueron calculados usando los valores de la Tabla 1 para cada pH





**Figura 2.** Evolución del color ( $a^*$  vs  $b^*$ ) como efecto del pH para las soluciones de *J. spicigera*: pH 2 ( $\triangle$   $\circ$   $\square$ ), 4 ( $\blacktriangle$   $\bullet$   $\blacksquare$ ), 8 ( $\blacktriangle$   $\bullet$   $\blacksquare$ ), 10 ( $\blacktriangle$   $\bullet$   $\blacksquare$ ), 12 ( $\blacktriangle$   $\bullet$   $\blacksquare$ ) y temperatura a)  $\blacktriangle$  40, b)  $\bullet$  60, c)  $\blacksquare$  80 °C. entre más cercanos los puntos en el gráfico, menor degradación fue observada. Los valores d) iniciales y e) finales fueron graficados por separado para mejor visualización.

### *Efecto de la temperatura en el color*

Los cambios de color de las soluciones de *J. spicigera*, ajustadas a diferentes pHs, siguieron una reacción fraccional de primer orden (Figura S1a) este comportamiento supone que la muestra alcanza un equilibrio y no una degradación completa de los compuestos evaluados, esto fue observado y propuesto por primera vez por Speers et al. (1987) en el deterioro del color del jugo de fresa. Lo que concuerda con estudios recientes, que demuestran cómo la degradación del pigmento/color visual sigue la cinética fraccional de primer orden en la

degradación de los carotenoides del puré de papaya y el color visual (Ahmed et al., 2002), el contenido de polifenoles de diferentes téis (Shannon et al., 2017) o la degradación de antocianinas de las uvas merlot y rubí (Muche et al., 2018). La Figura S1a muestra claramente cómo el efecto del pH en el cambio de color del Tono. Los pH 4, 8 y 10 a 60 °C fueron los más estables con menor cambio de color respecto al Tono inicial. Se observó la misma tendencia en todas las temperaturas probadas. El cambio en el *Hue* fue mayor especialmente para las temperaturas más altas con la excepción del pH 8 que permanece casi sin cambios como se puede observar en la Figura S1b (efecto de la temperatura en la constante de la tasa de degradación) y en la Tabla 3.

Los parámetros de regresión de la cinética de primer orden se muestran en la Tabla 3. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) estuvieron en el rango 0.891 – 0.999. A 40 °C para pH 4 y 10, los cambios de color no fueron significativos ( $p > 0.05$ ) en comparación con los valores iniciales, sin embargo, se calcularon los valores cinéticos y se utilizaron para los cálculos de energía de activación ( $E_a$ ) y Q10.

La Tabla 3 muestra el parámetro de regresión lineal de los cambios de color (sólo para *Hue*) después de calentar los extractos de *J. spicigera* durante 420 min. Se observa un claro incremento de los valores de  $k$  con el aumento de la temperatura a un mismo pH. El mismo comportamiento fue observado previamente por otros autores en la degradación del color de las antocianinas de salvado de arroz negro (Loypimai et al., 2016). Tanto para pH 2 como para pH 12 se observaron valores de  $k$  más altos especialmente por encima de 60 °C, lo que indica una menor estabilidad en estas condiciones, y una alta sensibilidad a la temperatura. Se observaron valores de  $k$  más bajos para pH 4 en comparación con pH 2.

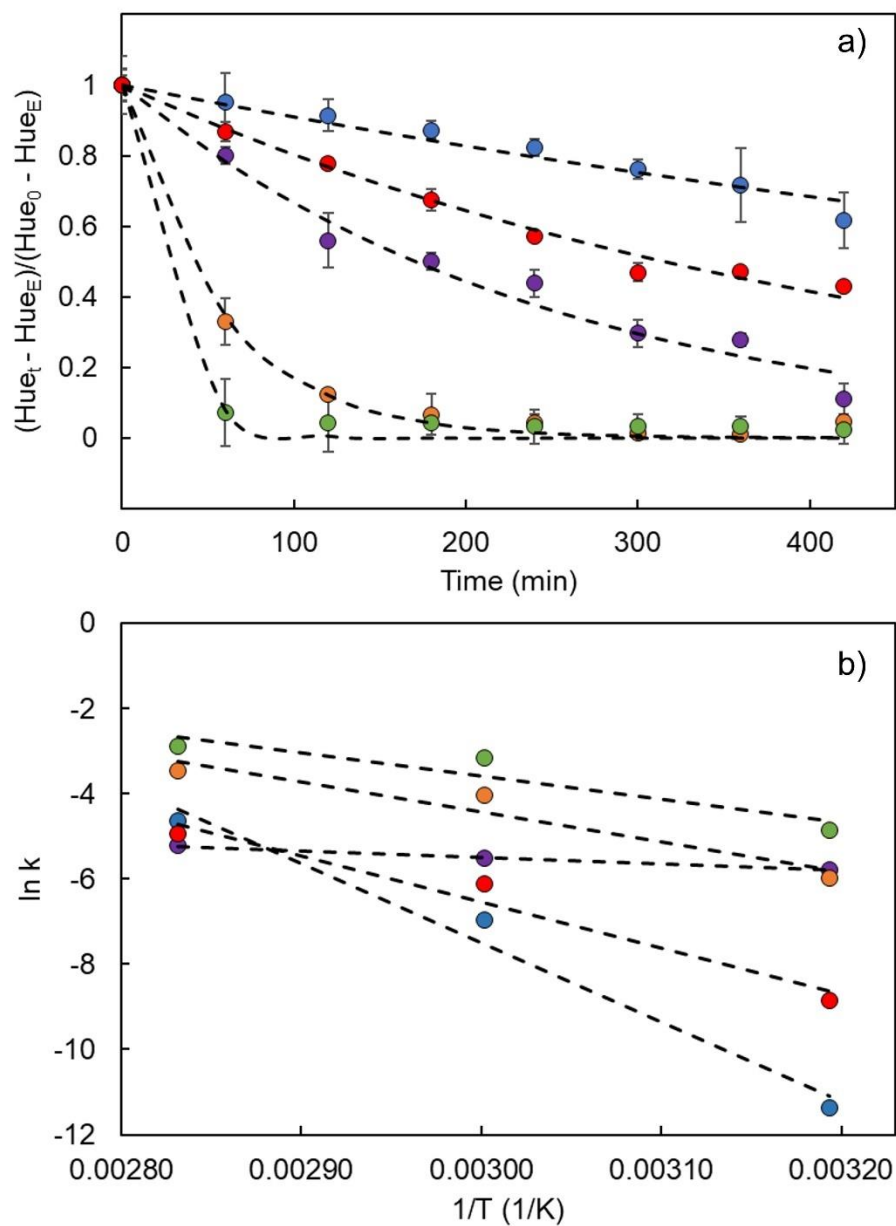
Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, (2004), encontraron que las antocianinas del camote morado y la zanahoria morada tenían mayor estabilidad a pH 3 que a pH 1. Sin embargo, la degradación de las antocianinas se debió principalmente al efecto de la temperatura, causando una posible deglucosilación, el ataque nucleofílico del agua, la escisión y la polimerización (Rodríguez-Amaya, 2019). A pH 8, los cambios de color fueron mínimos:  $Hue = 296.28$  a  $307.75^\circ$ , lo que coincide con el informe anterior en el que la peonidina era estable hasta pH 8 (Rajan et al., 2018). A pH 8, los  $t_{80\%}$  (tiempo para cambiar el 20% del  $Hue$  original) estaban en el rango de 41 – 71 min. A pesar de que los valores  $t_{80\%}$  a pH 4 y 10 fueron más altos, el aumento de la temperatura reduce la estabilidad al aumentar el valor de  $k$  (dando lugar a un cambio de color, Figura S1b, Tabla 3). En general, el  $t_{80\%}$  se redujo en función de la temperatura. A 80 °C se obtuvieron tiempos más cortos; por el contrario, las temperaturas más bajas aumentan el  $t_{80\%}$ .

Cabe destacar que  $E_a$  aumentó para los pHs 4 y 10 a pesar de que estas dos condiciones presentan la mayor estabilidad a 40 °C con el menor  $k$ ; el incremento de  $E_a$  significa una gran sensibilidad al calor (Ahmed et al., 2002) como se puede observar en la Figura S1b (puntos rojos y azules). Para los pHs 2 y 12, el  $E_a$  fue de 58.70 y 45.35 kJ/mol, respectivamente, estos valores estaban por encima del pH 8 y por debajo de los pHs 4 y 10, a pesar de no ser los más sensibles al calor, los altos valores de  $k$  inducen un rápido cambio de color (degradación de la antocianina). Por el contrario, se encontró una  $E_a$  baja para la condición de pH 8, lo que implica que es la menos sensible al calor y junto con los valores bajos de  $k$  fue capaz de mantener su color púrpura o requiere más tiempo para observar un cambio.

El  $E_a$  se utilizó para calcular el  $Q_{10}$  (Tabla 3). Se observó que los valores de  $Q_{10}$  aumentan a bajas temperaturas, al contrario de los valores obtenidos a altas temperaturas. En particular, para pH 4 y 10, el  $Q_{10}$  fue alto, lo que concuerda con lo observado en  $E_a$ , y la alta sensibilidad al calor para ambas condiciones. Otros autores mencionan que los altos valores de  $E_a$  y  $Q_{10}$  muestran una gran dependencia de la temperatura para la degradación de las antocianinas (Özkan et al., 2005) que son las responsables del color en el extracto de *J. spicigera*. Los valores más bajos de  $Q_{10}$  obtenidos para temperaturas altas podrían significar que después de ciertas temperaturas (alrededor de 60 °C) el proceso será equivalente a cualquier temperatura superior. Esto se observa especialmente para pH 2, 12 y 8. Para pH 8, el proceso (cambio de color) durará casi lo mismo a pesar del aumento de las temperaturas. Por el contrario, para pH 2 y 12, a temperaturas más bajas la degradación/desvanecimiento del color se observará 2.40 y 2.08 veces más rápido, respectivamente, si se aumentan 10 °C (de 40 a 50 °C), y para  $Q_{10}$  (70 a 80 °C) el cambio de color se observará casi al mismo tiempo sin importar la temperatura. Estos cambios pueden estar asociados a la inestabilidad de las antocianinas (forma de base quinoidal) que pueden sufrir la apertura del anillo para dar lugar a chalconas amarillas (Rodríguez-Amaya, 2019). Por lo tanto, los pigmentos de *J. spicigera* podrían ser adecuados para colorear alimentos con un pH entre 2 y 8 que vayan a ser sometidos a tratamientos térmicos.

**Table 3.** Parámetros cinéticos para la degradación térmica de los pigmentos naturales de *Justicia spicigera* a diferentes valores de pH.

pH	T(°C)	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$T_{80\%}$ (min)	$R^2$	$E_a$ (kJ/mol)	$K_{40-50}$	$Q_{10}$ (40→50)	$k_{60-70}$	$Q_{10}$ (60→70)
2	40	0.0025	88.21	0.891	58.70	0.006	2.40	0.022	1.23
	60	0.0176	12.68	0.997					
	80	0.0318	7.03	0.996					
4	40	0.0001	1544.59	0.011	90.27	0.001	3.54	0.004	1.65
	60	0.0022	101.33	0.987					
	80	0.0071	31.24	0.994					
8	40	0.0031	71.96	0.962	12.83	0.004	1.15	0.005	1.16
	60	0.0041	54.96	0.975					
	80	0.0054	41.14	0.965					
10	40	$1.2 \times 10^{-5}$	19100.83	0.224	154.99	0.000	7.99	0.003	2.85
	60	0.0009	235.48	0.966					
	80	0.0096	23.30	0.952					
12	40	0.0079	28.32	0.979	45.35	0.016	2.08	0.044	1.04
	60	0.0421	5.30	0.998					
	80	0.0552	4.04	0.999					



**Figura S1.** a) Cinética de degradación de primer orden para *Hue* de las soluciones de *J. spicigera* a diferentes valores de pH: 2 (●), 4 (●), 8 (●), 10 (●), 12 (●) durante el tratamiento térmico a 60°C (temperatura intermedia). b) grafica de Arrhenius para las constantes de degradación de *Hue*.

***Tiempo-de-falla: enfoque del tiempo de viabilidad***

Se utilizó el modelo *Time-to-Failure* para describir la influencia del pH y la temperatura en la estabilidad del color de los pigmentos de *J. spicigera*. Se seleccionaron dos parámetros como posibles descriptores de color para los cambios de color durante el tratamiento térmico (sensibilidad térmica). La diferencia total de color ( $\Delta E$ ) es un parámetro bien conocido que relaciona las diferencias entre dos colores. Una diferencia total de color superior a 4 podría distinguirse a simple vista (Krieger et al., 2020). Este valor se "fijó como una falla" para el tratamiento térmico. Por otro lado,  $\%Hue_{20}$  ( $< 20\%$ ) el valor representa el matiz de un color; sin embargo, no hay un valor establecido para relacionar los cambios en el *Hue* con un cambio perceptible en el color. Por lo tanto, se utilizó como valor de falla para el modelo TTF un cambio superior al 20%, que equivale a un cambio de  $36^\circ$  (considerando  $180^\circ$  como 100%). Los valores tanto de  $\Delta E$  como de *Hue* se recogen en la Tabla 1S. Se puede observar que el *Time-to-Failure* disminuye a medida que aumenta el pH. La inestabilidad de las antocianinas en los extractos de *J. spicigera* ya se ha discutido en secciones anteriores. En general, el tiempo para lograr un fallo coincide tanto para  $\Delta E$  como para *Hue*; especialmente, los valores cercanos de pH neutro que son los más estables (Tabla 3).

Se obtuvieron dos ecuaciones (14, 15) para describir cada parámetro en función de la TTF.

$$\ln(TTF \Delta E) = 7.362 - 0.995pH + 0.002T - 0.323pH \times T - 0.828pH^2 - 0.190T^2 \quad (14)$$

$$\ln(TTF \%Hue_{20}) = 7.317 - 0.801pH - 0.303T + 0.167pH \times T - 1.304pH^2 + 0.004T^2 \quad (15)$$

Las precisiones ( $R^2$ ) de los modelos fueron de 0.983 y 0.700, para la ecuación (14) y (15), respectivamente, lo que permitió estimar los efectos de las temperaturas y el pH en la viabilidad temporal de los pigmentos. Esto significa que los modelos probabilísticos podrían utilizarse para predecir el comportamiento de los pigmentos que han de utilizarse en matrices alimentarias. Esta misma metodología puede utilizarse para estimar el tiempo de falla de otros ingredientes.

La Figura 3 muestra el tiempo hasta la falla para cambios en  $\Delta E$  y  $Hue_{20}$  ( $< 20\%$ ), respectivamente. Se puede observar en la Figura 3a una zona inestable cuando la temperatura aumenta, provocando un cambio de color ( $\Delta E \geq 4$ ), en esta zona todos los pigmentos podrían degradarse y cambiar su color. Por encima de 150 °C, el color podría permanecer sin cambios durante 60 minutos para pH 2 y 4. A medida que aumenta el pH, es necesario aplicar temperaturas más bajas para mantener el color. Todos los pH, excepto el 12, se encuentran en la zona de estabilidad, dependiendo de la temperatura el color durará al menos 420 min, lo que podría traducirse en procesos que impliquen el uso de pigmentos.

Por otro lado, el alto valor en el término cuadrático de pH para TTF  $\%Hue_{20}$  (Ecuación 15) aumenta la curvatura formando una parábola (Figura 3b). Los valores a pH 8 fueron estables durante 420 min (el mayor tiempo evaluado) a unos 130 °C. Por encima de 100 °C para pH 4 a pH 10, los valores caen dentro de la zona de estabilidad. Un exceso de tiempo a una temperatura fija podría conducir a la degradación del pigmento y a cambios de color ( $Hue$ ).

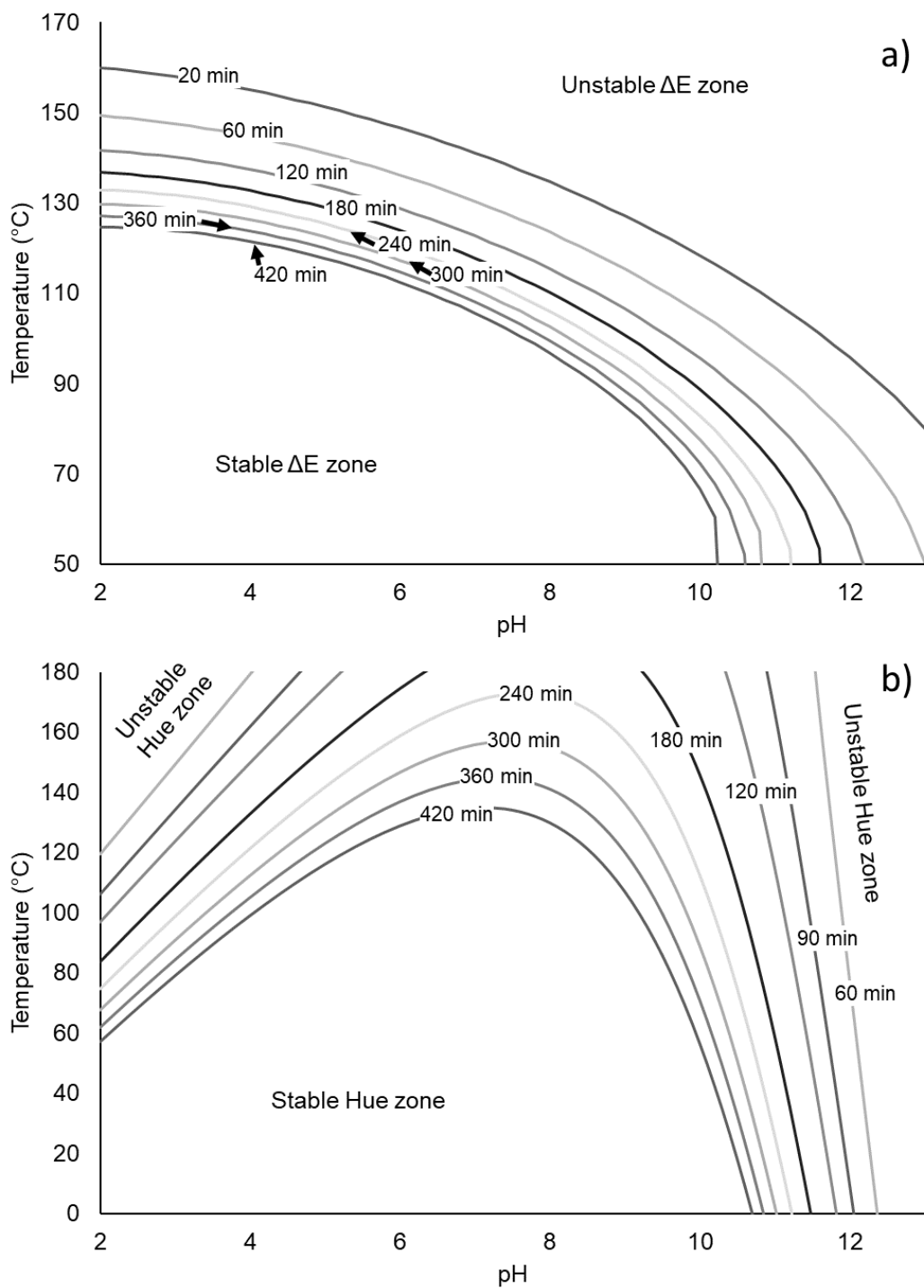


**Tabla 1S.** Tiempo-de-Falla para el cambio visual del color ( $\Delta E$ ) y cambios en el tono del color ( $Hue_{20}$ ) de pigmentos de *Justicia spicigera* a diferentes valores de pH y temperatura <sup>a</sup>.

T (°C)	pH	TTF (min)	$\Delta E$	F <sup>b</sup> /C <sup>c</sup>	TTF (min)	$Hue_{20}$ (%)	F <sup>b</sup> /C <sup>c</sup>
40 °C	2	420	2.25 (0.05)	C	420	14.68 (0.02)	C
	4	420	4.18 (0.03)	F	420	0.02 (0.02)	C
	8	420	0.99 (0.01)	C	420	2.4 (0.01)	C
	10	420	1.26 (0.07)	C	420	0.31 (0.01)	C
	12	120	4.60 (0.07)	F	60	20.12 (0.01)	F
60 °C	2	420	2.58 (0.76)	C	240	19.75 (0.4)	F
	4	420	1.64 (0.45)	C	420	6.97 (0.05)	C
	8	420	0.77 (0.64)	C	420	2.05 (0.00)	C
	10	420	3.52 (0.17)	C	420	24.27 (0.29)	F
	12	60	10.27 (0.58)	F	60	60.54 (0.35)	F
80 °C	2	420	1.92 (0.01)	C	180	20.12 (1.1)	F
	4	420	2.09 (0.23)	C	420	12.25 (0.02)	C
	8	420	2.71 (0.01)	C	420	3.87 (0.05)	C
	10	120	5.34 (0.18)	F	120	47.67 (0.32)	F
	12	60	16.97 (3.65)	F	60	63.05 (0.04)	F

<sup>a</sup> Se considero como falla cuando  $\Delta E \geq 4$  o  $Hue \geq 20\%$ . <sup>b</sup>C = cuando no se observará ningún cambio después de que el experimento terminará. <sup>c</sup>F = Falla.

**Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**



**Figura 3.** Tiempo-de-Falla para: a) cambio visual del color ( $\Delta E$ ) y b) cambios en el tono del color ( $Hue_{20}$ ) de pigmentos de *Justicia spicigera* a diferentes valores de pH y temperatura.

## Conclusiones

Los pigmentos de *Justicia spicigera*, pudieron ser utilizados debido a su alta gama de colores a diferentes pH. El color de *J. spicigera* cambió a naranja, rojo pálido, púrpura y azul desde bajo a alto pH. Los cambios de color se deben a los cambios en la estructura molecular de las antocianinas presentes en el extracto. El tratamiento térmico afectó a la retención del color; sin embargo, la estabilidad del color mejora por debajo de 60 °C. A un pH de hasta 10, el color presentó el mayor índice de degradación. Se utilizó el enfoque "*Time-to-Failure*" y fue una herramienta útil para determinar la estabilidad del color debido al tratamiento térmico. Las condiciones fuera de la zona de estabilidad del modelado de temperatura vs. pH deben evitarse para asegurar que no se produzcan cambios de color en *E* y *Hue* en las soluciones de *J. spicigera*. Dependiendo del pH y del tiempo de tratamiento, se podría fijar una temperatura para asegurar un color final deseable en las soluciones de *J. spicigera* o incluso en los sistemas alimentarios. Deben establecerse modelos complejos o robustos y o incluir otros parámetros de color para establecer las diferencias visuales observadas por observadores entrenados. La evaluación durante el procesamiento de los alimentos utilizando pigmentos de *J. spicigera* debe realizarse ya que otros compuestos colorantes presentes en la matriz alimentaria podrían mejorar o disminuir la estabilidad del color. Los datos obtenidos en este estudio podrían ser una herramienta útil para orientar a los productores de alimentos sobre la aplicación de pigmentos naturales en los sistemas alimentarios.

## Declaración de contribución de la autoría del CRediT

Jiménez-González: Conceptualización, Metodología, Redacción - revisión y edición - borrador original, López-Malo: Metodología, Supervisión, Redacción - revisión, González-Perez, Metodología, Curación de datos, Ramírez-Corona, Metodología, Validación, Guerrero-Beltrán: Conceptualización, Redacción - revisión y edición.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### **Agradecimientos**

El autor Jiménez-González agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México por el apoyo financiero para sus estudios de doctorado.

### **Referencias**

- Alvarez-Poblano, L., Roman-Guerrero, A., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2020). Exogenous addition of muicle (*Justicia spicigera* Schechtendal) extract to white maize tortillas affects the antioxidant activity, texture, color, and in vitro starch digestibility. *LWT*, *133*, 110120. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110120>
- Castro-Alatorre, N. C., Gallardo-Velázquez, T., Boyano-Orozco, L. C., Téllez-Medina, D. I., Meza-Márquez, O. G., & Osorio-Revilla, G. (2021). Extraction and Microencapsulation of bioactive compounds from muicle (*Justicia spicigera*) and their use in the formulation of functional foods. *Foods*, *10*(8), 1747. <https://doi.org/10.3390/foods10081747>

- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2022). Microencapsulates by spray of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG from fermented whole or skimmed cow's milk added with Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*) extract using mesquite gum as carrier agent. *Heliyon*, 8(9), e10733. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10733>
- Liu, Y., Liu, Y., Tao, C., Liu, M., Pan, Y., & Lv, Z. (2018). Effect of temperature and pH on stability of anthocyanin obtained from blueberry. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1744-1753. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9789-1>
- Swain, S., Samuel, D. V. K., Bal, L. M., & Kar, A. (2014). Thermal Kinetics of Colour Degradation of Yellow Sweet Pepper (*Capsicum Annum* L.) Undergoing Microwave Assisted Convective Drying. *International Journal of Food Properties*, 17(9), 1946-1964. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.775150>
- Cantrell, K., Erenas, M. M., de Orbe-Payá, I., & Capitán-Vallvey, L. F. (2010). Use of the Hue parameter of the Hue, saturation, value color space as a quantitative analytical parameter for bitonal optical sensors. *Analytical Chemistry*, 82(2), 531-542. <https://doi.org/10.1021/ac901753c>
- Ahmed, J., Shivhare, U. S., & Sandhu, K. S. (2002). Thermal degradation kinetics of carotenoids and visual color of papaya puree. *Journal of Food Science*, 67(7), 2692–2695. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08800.x>
- APHA, (American Public Health Association), AWWA, (American Water Works Association), & WEF, (Water Environment Federation). (1992). 2120 COLOR. In M. A. H. Franson (Ed.), *Standard methods for the examination of water and wastewater* (18th ed., Vol. 1–0). American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.017>
- Awad, N. E., Abdelkawy, M. A., Hamed, M. A., Souleman, A. M. A., Abdelrahman, E. H., & Ramadan, N. S. (2015). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Justicia spicigera* ethyl acetate fraction and characterization of its anthocyanin content. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(8), 91–96.
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, 218, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>
- Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86(1), 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., & Clark, J. R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1771–1782. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1885>

- da Silva Simão, R., de Moraes, J. O., Lopes, J. B., Frabetti, A. C. C., Carciofi, B. A. M., & Laurindo, J. B. (2022). Survival analysis to predict how color influences the shelf life of strawberry leather. *Foods*, 11(2), 218. <https://doi.org/10.3390/foods11020218>
- Esmerino, E. A., Paixão, J. A., Cruz, A. G., Garitta, L., Hough, G., & Bolini, H. M. A. (2015). Survival analysis: A consumer-friendly method to estimate the optimum sucrose level in probiotic petit suisse. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7544–7551. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9651>
- Gacula, M. C., & Singh, J. (1984). *Statistical Methods in Food and Consumer Research*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02978-X>
- Gambaro, A., Ares, G., & Gimenez, A. (2006). Shelf-life estimation of apple-baby food. *Journal of Sensory Studies*, 21(1), 101–111. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00053.x>
- Garber, L. L., Hyatt, E. M., & Nafees, L. (2016). The effects of analogous food color on perceived flavor: A factorial investigation. *Journal of Food Products Marketing*, 22(4), 486–500. <https://doi.org/10.1080/10454446.2015.1072866>
- Gençdağ, E., Özdemir, E. E., Demirci, K., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2022). Copigmentation and stabilization of anthocyanins using organic molecules and encapsulation techniques. *Current Plant Biology*, 29, 100238. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2022.100238>
- Giménez, A., Ares, G., & Gambaro, A. (2008). Survival analysis to estimate sensory shelf life using acceptability scores. *Journal of Sensory Studies*, 23(5), 571–582. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2008.00173.x>
- Guerra, S., Lagazio, C., Manzocco, L., Barnabà, M., & Cappuccio, R. (2008). Risks and pitfalls of sensory data analysis for shelf life prediction: Data simulation applied to the case of coffee. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 2070–2078. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.011>
- Habtemariam, S. (2019). Bilberries and blueberries as potential modulators of type 2 diabetes and associated diseases. In *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases* (pp. 135–175). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102922-0.00007-9>
- Hough, G., Langohr, K., Gomez, G., & Curia, A. (2003). Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *Journal of Food Science*, 68(1), 359–362. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14165.x>
- Jacobo-Velázquez, D. A., Ramos-Parra, P. A., & Hernández-Brenes, C. (2010). Survival analysis applied to the sensory shelf-life dating of high hydrostatic pressure processed avocado and mango pulps. *Journal of Food Science*, 75(6), S286–S291. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01656.x>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health

- benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kosegarten, C. E., Ramírez-Corona, N., López-Malo, A., & Mani-López, E. (2022). Wheat-based fried snacks shelf-life prediction using kinetic, probabilistic, and time-to-fail models. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16548>
- Kosegarten, C. E., Ramírez-Corona, N., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2017). Description of *Aspergillus flavus* growth under the influence of different factors (water activity, incubation temperature, protein and fat concentration, pH, and cinnamon essential oil concentration) by kinetic, probability of growth, and time-to-detection models. *International Journal of Food Microbiology*, 240, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.024>
- Krieger, L. W. M. M., Ridge, T., Demers, A., Vishwanath, K., & Sparks, J. L. (2020). Method for improving skin color accuracy of three-dimensional printed training models for early pressure ulcer recognition. In *Innovations and Emerging Technologies in Wound Care* (pp. 245–279). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815028-3.00014-6>
- Liao, M., Zou, B., Chen, J., Yao, Z., Huang, L., Luo, Z., & Wang, Z. (2019). Effect of domestic cooking methods on the anthocyanins and antioxidant activity of deeply purple-fleshed sweetpotato GZ9. *Heliyon*, 5(4), e01515. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01515>
- Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2016). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 461–470. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2002-1>
- Marques, C., Lise, C. C., Lima, V. A. de, & Daltoé, M. L. M. (2020). Survival analysis and cut-off point to estimate the shelf life of refrigerated fish burgers. *Food Science and Technology*, 40(1), 171–177. <https://doi.org/10.1590/fst.36918>
- Moreno, J., & Peinado. (2012). Polyphenols. In *Enological Chemistry* (pp. 53–76). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388438-1.00005-4>
- Muche, B. M., Speers, R. A., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). Storage temperature impacts on anthocyanins degradation, color changes and haze development in juice of “Merlot” and “Ruby” grapes (*Vitis vinifera*). *Frontiers in Nutrition*, 5, 100. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00100>
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., Chiewchan, N., & Raghavan, G. S. V. (2020). Color and molecular structure alterations of brazilein extracted from *Caesalpinia sappan* L. under different pH and heating conditions. *Scientific Reports*, 10(1), 12386. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69189-3>

- Oancea, S. (2021). A Review of the current knowledge of thermal stability of anthocyanins and approaches to their stabilization to heat. *Antioxidants*, 10(9), 1337. <https://doi.org/10.3390/antiox10091337>
- Özkan, M., Yemenicioğlu, A., & Cemeroğlu, B. (2005). Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. *Food Research International*, 38(8–9), 1015–1021. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.03.013>
- Patras, A., Brunton, Nigel. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
- Rajan, V. K., T.K., S. A., C.K., H., & Muraleedharan, K. (2018). A non toxic natural food colorant and antioxidant 'Peonidin' as a pH indicator: A TDDFT analysis. *Computational Biology and Chemistry*, 76, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.07.015>
- Rakić, V., & Poklar Ulrih, N. (2021). Influence of pH on color variation and stability of cyanidin and cyanidin 3- O- $\beta$  -glucopyranoside in aqueous solution. *CyTA - Journal of Food*, 19(1), 174–182. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1874539>
- Rasane, P., Jha, A., & Sharma, N. (2015). Predictive modelling for shelf life determination of nutricereal based fermented baby food. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8), 5003–5011. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1545-x>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments—A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, 124, 200–205. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028>
- Roobha, J. J., Saravanakumar, M., Aravindhan, K. M., & Devi, P. S. (2011). The effect of light, temperature, pH on stability of anthocyanin pigments in *Musa acuminata* bract. *Research in Plant Biology*, 1(5), Article 5. <https://updatepublishing.com/journal/index.php/ripb/article/view/2597>
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *Journal of Food Science*, 71(8), C504–C512. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00148.x>
- Shannon, E., Jaiswal, A. K., & Abu-Ghannam, N. (2017). Polyphenolic content and antioxidant capacity of white, green, black, and herbal teas: A kinetic study. *Food Research*, 2(1), 1–11. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).117](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).117)
- Speers, R. A., Tung, M. A., & Jackman, R. L. (1987). Prediction of Colour Deterioration in Strawberry Juice. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 20(1), 15–18. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(87\)70663-4](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(87)70663-4)



Zhai, L.-Y., Lu, W.-F., Liu, Y., Li, X., & Vachtsevanos, G. (2013). Analysis of Time-to-Failure data with Weibull model in product life cycle management. In A. Y. C. Nee, B. Song, & S.-K. Ong (Eds.), *Re-engineering Manufacturing for Sustainability* (pp. 699–703). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-4451-48-2\\_114](https://doi.org/10.1007/978-981-4451-48-2_114)

## Capítulo IV

### **Microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión de leche entera y descremada fermentada con *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG adicionada con extracto de Muicle (*Justicia spicigera*) utilizando goma de mezquite como agente encapsulante**

Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán

#### **Resumen**

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la adición de extracto a 5 °Bx de muicle (*Justicia spicigera*) (JSE) en encapsulados obtenidos mediante secado por aspersión de leche de vaca entera y descremada, fermentada y sin fermentar con *Lacticaseibacillus rhamnosus* (LR). Todas las muestras fueron secadas a 160 °C. Las muestras fueron analizadas en términos de sus propiedades físicas (humedad, actividad de agua ( $a_w$ ), parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Hue y Croma y tamaño de partícula), contenido de LR, y compuestos bioactivos (antocianinas totales (TA), compuestos fenólicos totales (TPC) y capacidad antioxidante (AC) usando la técnica DPPH). Los resultados mostraron que la cantidad de LR en la leche fermentada antes del secado por aspersión se encontraron en el rango de 6.79 – 7.44 ciclos  $\text{Log}_{10}$  (UFC/mL). Después del secado por aspersión, el valor de LR fue de 4.46  $\text{Log}_{10}$  (UFC/mL) en el polvo de leche descremada – *J. spicigera* fermentada siendo el valor más bajo. Por otro lado, el color del polvo dependió del momento de adición de JSE y la fermentación. Los polvos de leche fermentada fueron café/naranja/rojo pálido (Hue = 44.91 – 59.7), para los no fermentados y para la solución de extracto de *J. spicigera* – maltodextrina

(12% p/v) fueron morados ( $Hue = 314.52 - 326.68$ ). Se obtuvieron partículas de mayor tamaño (52 – 104.7  $\mu\text{m}$ ) en los polvos provenientes de leche entera fermentada y sin fermentar. Por el contrario, la leche descremada y la mezcla de maltodextrina tuvieron valores en el rango de 15.56 – 44.0  $\mu\text{m}$ . El contenido de TPC en los polvos fue más alto (16.96 – 33.81 mg GAE/g de polvo bs) comparado con TA (0.27 – 0.64 mg Peonidina-3,5-diglucosido/g de polvo bs). TPC incrementó con la fermentación y permaneció después del secado por aspersión. Se encontró una correlación positiva en el contenido de TA y TPC, ambos junto con otros compuestos tuvieron una capacidad antioxidante arriba de 10.18 mg TE/g de polvo bs. El análisis de componentes principales mostró que el tipo de leche y la fermentación separaron a los polvos en cuatro grupos, dependiendo de sus propiedades físicas y antioxidantes. Los pigmentos encapsulados pueden ser usados en diferentes formulaciones en la industria alimenticia para incrementar el contenido de compuestos bioactivos y colorear alimentos.

### Palabras clave

Pigmentos microencapsulados, extractos de *Justicia spicigera*, leche fermentada, *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG, antioxidantes, antocianinas.

### Introducción

El color es uno de los aspectos sensoriales más importantes en los alimentos, ya que puede influir en la toma de decisión y preferencia de estos por parte de los consumidores. Durante los tratamientos usados para la preservación de alimentos, los pigmentos presentes de forma natural se degradan con facilidad; en consecuencia, el color se ve alterado (Coultate & Blackburn, 2018), o se pierde completamente. Por lo que, el desarrollo de colorantes

naturales o artificiales toma relevancia en la industria alimenticia. En especial, se han utilizado diferentes pigmentos provenientes de fuentes naturales para llevar a cabo este propósito, ya que, además, los pigmentos naturales se destacan por sus diferentes propiedades funcionales (Lima et al., 2019; Sari et al., 2019). Dentro de los más usados se encuentran las antocianinas. Estas son las responsables del color de distintas partes de las plantas (alojados en las vacuolas) como flores, tallos, raíces y semillas (Horbowicz et al., 2008; Kallam et al., 2017). Las antocianinas son solubles en solventes polares; además gracias a sus dobles enlaces en sus múltiples anillos aromáticos, se les atribuyen propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas, entre otras (Giuliani et al., 2016; Sari et al., 2019; Q. Zhang et al., 2019)

Se han utilizado diversas fuentes naturales (de origen vegetal) para la extracción, encapsulación y aplicación de antocianinas para colorear alimentos (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021). No obstante, los pigmentos provenientes de *Justicia spicigera* han sido estudiados por muy pocos investigadores. La planta *J. spicigera* es originaria de México y ha sido utilizada para teñir telas (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017; Chan-Bacab et al., 2015), para la elaboración de pinturas, códices, murales (Arberet et al., 2021; Casanova-González et al., 2012) o artesanías (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017), y para colorear tortillas (Alvarez-Poblano et al., 2020). Además, se ha utilizado en la medicina tradicional, como ansiolítico (García-Ríos et al., 2019), antiinflamatorio (Real-Sandoval et al., 2020), analgésico/antinociceptivo (Zapata-Morales et al., 2016), antipirético (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2014), entre otros. De igual forma se ha reportado su eficacia como

antimicrobiano contra bacterias y hongos patógenos (Bernardo-Mazariegos et al., 2019; Jacobo-Salcedo et al., 2011) y contra células cancerígenas (Jacobo-Salcedo et al., 2011).

Por otro lado, una forma de fortificar alimentos es mediante la adición de bacterias probióticas. La mayoría de estos probióticos pertenecen al grupo de las bacterias ácido-lácticas tales como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, estas se caracterizan por promover beneficios a la salud cuando son ingeridas y llegan al intestino (Varzakas et al., 2018). Una forma de transportar estos probióticos al intestino es mediante la adición en alimentos; sin embargo, es necesario que sean viables durante el procesamiento, almacenamiento y consumo (Shori, 2015; Syngai et al., 2016; Y. Zhang et al., 2017). Por lo que la encapsulación puede ayudar a proteger a los microorganismos probióticos y además ayudar a su incorporación durante el procesamiento.

Adicionalmente, durante la fermentación algunos metabolitos secundarios pueden ser generados, como algunos compuestos fenólicos y ácidos orgánicos (Filannino et al., 2018). Estos compuestos pueden trabajar como co-pigmentos y formar complejos mediante enlaces no-covalentes (antocianinas-metabolito secundario) (Sun et al., 2022). Esto último previene o minimiza los cambios de color debido a reacciones químicas (Fan et al., 2008).

Cabe mencionar que la encapsulación además de ayudar a proteger microorganismos probióticos antes de ser incorporados en los alimentos o durante el procesamiento, también ha sido usada para proteger una gran variedad de compuestos, incluyendo las antocianinas (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021). Esta técnica añade una capa delgada que rodea al ingrediente activo, lo cual extiende su vida útil, facilita

su incorporación en alimentos, y reduce los costos de almacenaje y transporte. La encapsulación de sistemas ricos en antocianinas y bacterias probióticas ha sido reportada sólo por algunos autores. Bolea et al. (2021) encapsularon antocianinas de arroz negro (*Oryza sativa* L.) mezclado con *Lactobacillus paracasei*. Ellos observaron que el arroz negro podía ser mezclado con bacterias ácido-lácticas. Anekella & Orsat (2013) realizaron la encapsulación de jugo de frambuesa con *Lactobacillus rhamnosus*. Sin embargo, en ambos estudios, los investigadores no realizaron el crecimiento y desarrollo de los probióticos en el extracto de antocianinas antes de la encapsulación. Por lo que, el desarrollo de encapsulados de mezclas probióticos – pigmentos podría ser una forma atractiva para transportar tanto probióticos como compuestos bioactivos al tracto gastrointestinal.

El objetivo de este trabajo fue obtener encapsulados mediante secado por aspersión de leche fermentada y sin fermentar usando leche entera y deslactosada que contengan *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG y pigmentos de *Justicia spicigera*.

## **Materiales y Métodos**

### ***Materiales***

Las hojas de *Justicia spicigera* fueron adquiridas en un mercado local en la ciudad de Puebla, México. Se utilizó leche comercial (Santa Clara, The Coca-Cola Company, México) ultrapasteurizada para la fermentación y encapsulación de los pigmentos, la leche entera contenía 30 g de grasa/L de leche y la leche descremada 5 g de grasa/L de leche, ambas muestras contenían 30 g de proteína/L de leche. La maltodextrina fue provista por Ingredion

S.A. de C.V., y la goma de mezquite fue cosechada de árboles de mezquite al norte de México y purificada de acuerdo con lo reportado por Beristain et al. (2002).

### ***Extracción y concentración de compuestos de Justicia spicigera***

Las hojas de *J. spicigera* fueron secadas por 48 h a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) y molidas. Se mezclaron 0.3 g de polvo con 25 mL de etanol 50% (p/v). La extracción de pigmentos se llevó a cabo durante 2 h en agitación en la oscuridad de acuerdo con la metodología de Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán (2017). La mezcla polvo-etanol fue centrifugada para remover los sólidos a 4500 rpm durante 10 min (4 °C). El extracto centrifugado se concentró en un rotavapor a 45 °C y 54 mmHg hasta obtener una concentración alrededor de 5% de sólidos solubles totales. El extracto final se ajustó hasta 5°Bx y almacenó en refrigeración (4 °C) para su posterior uso.

### ***Preparación del inóculo***

*Lactocaseibacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) fue obtenida de la Colección del Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) (Cholula, Puebla, México). *L. rhamnosus* fue cultivado previamente en 100 mL de caldo de *Man Rogosa* y *Sarpe* (MRS) hasta alcanzar la fase estacionaria temprana; posteriormente, fue mezclada con glicerol a una relación 1:1 (v/v). La mezcla fue colocada en viales de 1 mL y almacenada a -20°C. Para llevar a cabo la fermentación de la leche, un vial de *L. rhamnosus* fue descongelado y resuspendido en 50 mL de leche entera e incubado a 37°C durante 3 días (inoculo para fermentación). Se realizó el recuento de las bacterias

ácido-lácticas en agar MRS para determinar el número de colonias en el inóculo; aproximadamente  $7.26 \pm 0.20$  ciclos  $\text{Log}_{10}$  UFC/mL.

### ***Tratamientos***

Se llevaron a cabo los siguientes tratamientos: 1) leche entera fermentada-extracto de *J. spicigera* previo a la fermentación (FWJ), 2) leche descremada fermentada-extracto de *J. spicigera* previo a la fermentación (FSJ), 3) leche entera fermentada con adición subsecuente de extracto de *J. spicigera* (FWSAJ), 4) leche descremada fermentada con adición subsecuente de extracto de *J. spicigera* (FSSAJ), 5) leche entera sin fermentar-extracto de *J. spicigera* (WJ), 6) leche descremada sin fermentar-extracto de *J. spicigera* (SJ), y 7) extracto de *J. spicigera*-solución de maltodextrina (12% p/v) (JM). Cada tratamiento fue preparado en una relación 1:3 (extracto *J. spicigera*: leche fermentada o sin fermentar o solución de maltodextrina). Se añadió goma de mezquite al 3% (p/v) como agente encapsulante a todos los tratamientos.

### ***Fermentación***

La fermentación fue realizada en los cuatro tratamientos: FWJ, FSJ, FWSAJ, FSSAJ. El proceso de fermentación se llevó a cabo añadiendo el inóculo en una relación 1:10 (v/v). La leche inoculada con o sin el extracto de *J. spicigera*, fue colocado en recipientes estériles y se dejó fermentar por 3 días a 37 °C con agitación a 80 rpm usando un baño con agitación. La fermentación se llevó a cabo en la oscuridad para evitar la degradación de los pigmentos que fueron añadidos a la leche antes de la fermentación.



### ***Secado por aspersión***

El secado por aspersión de 200 mL de cada tratamiento se llevó a cabo en un secador escala piloto *Buchi Mini spray-dryer* B-290 (Büchi, Mod. B-290, Suiza) a  $160 \pm 3$  °C como temperatura de entrada y  $90 \pm 3$  °C temperatura de salida, aspiración o flujo de aire igual a  $3.5 \text{ m}^3/\text{s}$  (100%), presión igual a 1.05 bar, flujo de alimentación igual a  $3.21 \pm 0.42 \text{ mL}/\text{min}$  y boquilla de aspersión de 0.7 mm.

### ***Caracterización de los pigmentos encapsulados***

#### ***Humedad y actividad de agua ( $a_w$ )***

El contenido de humedad se determinó mediante el secado de 2 g de polvo a  $75 \pm 2$  °C a condiciones de vacío, hasta peso constante, para evitar el quemado de la muestra y evitar el daño de compuestos como antioxidantes, pigmentos entre otros compuestos y lo más importante, evitar "matar" o inhibir las bacterias. La actividad de agua ( $a_w$ ) se determinó utilizando un higrómetro (AQUALAB 4TE, Pullman, WA, USA).

#### ***Color***

Para determinar el color de los polvos se determinó el valor de las cromátidas ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), utilizando un colorímetro portable (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japón), las cuales se utilizaron para determinar el valor de *Hue* o tono (ecuación 1), y *Croma* o saturación de color (ecuación 2).

$$Hue = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

$$Croma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

### ***Tamaño de partícula***

La distribución de tamaño de partícula se determinó mediante difracción láser (Bluewave, Microtrac, USA). Este método se basa en la intensidad de la luz dispersada cuando un láser pasa a través de la muestra. La medición se realizó en un g aproximadamente la muestra seca. Los valores d10, d50 y d90 fueron determinados automáticamente con el programa del equipo; estos fueron usados para el cálculo de distribución de tamaño o “*Span*” (ecuación 3). Los valores D[4:3] o diámetro promedio De Broucker y D[3:2] o diámetro promedio de Sauter fueron calculadas con el software del equipo.

$$Span = \frac{d_{90}-d_{10}}{d_{50}} \quad (3)$$

### ***Recuento de *Lacticaseibacillus rhamnosus****

El contenido de microorganismos probióticos se determinó mediante recuento en placa utilizando agar MRS (MERCK, Alemania). Las placas se mantuvieron recipientes anaerobios (AnaeroJar, Oxoid, Thermo Scientific) durante 48 h a 37°C.

### *Compuestos bioactivos*

Para la determinación de compuestos bioactivos, se disolvieron 100 mg de cada muestra en 10 mL de agua destilada y se mantuvieron en agitación utilizando un *vortex* hasta que la muestra se observaba completamente homogénea. Para eliminar sólidos que pudieran afectar a la medición, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm por 5 min a 4°C.

### *Compuestos fenólicos totales*

La cantidad de compuestos fenólicos se determinó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones (Singleton & Rossi, 1965). Se mezclaron 200 µL de muestra con 1000 µL del reactivo de Folin (solución acuosa, 0.4 M) y se dejaron reposar por 3 min. Pasado ese tiempo se le agregaron 1000 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (solución acuosa, 5% p/v), y se mantuvieron en oscuridad por 30 min. Se leyó la absorbancia de cada muestra a 765 nm usando un espectrofotómetro Shimadzu UV-1900i (Tokio, Japón). Para el cálculo de la concentración se realizó una curva estándar ( $R^2 = 0.987$ ) con diferentes concentraciones de ácido gálico (0-50 ppm). El contenido de compuestos fenólicos totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de muestra (mg GAE/g) en base seca (bs) y se calculó con la siguiente expresión (ecuación 6).

$$TPC \left( \frac{mg \text{ GAE}}{g} \right) = \left( \frac{Abs-b}{m} \right) \times DF \quad (6)$$

donde  $Abs$  es la absorbancia de la muestra,  $b$  el intercepto (0.0064) y  $m$  la pendiente (0.0008),  $DF$  es el factor de dilución.

### ***Antocianinas monoméricas totales***

El contenido total de antocianinas en el polvo se determinó utilizando el método espectrofotométrico diferencial de pH (Lee et al., 2005). Brevemente, un mililitro de cada muestra se mezcló con los diferentes buffers por separado (cloruro de potasio al 0.025 M, pH 1.0 y buffer de acetato de sodio al 0.4 M, pH 4.5) y se dejaron reposar durante 15 min en oscuridad a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se leyó la absorbancia de cada muestra a los diferentes pH a 520 y 700 nm en un espectrofotómetro Shimadzu, UV-1900i (Tokyo, Japan). La absorbancia se calculó utilizando la siguiente ecuación (7).

$$Abbs = (Abs_{520} - Abs_{700})_{pH\ 1.0} - (Abs_{520} - Abs_{700})_{pH\ 4.5} \quad (7)$$

El contenido total de antocianinas se expresó como los equivalentes de peonidina-3,5-diglicosido (Pnd-3,5-diglu) por gramo de muestra (mg Png-3,5-diglu/g) en base seca (bs) utilizando la siguiente ecuación (8).

$$AT \left( \frac{mg\ Pnd-3,5-diglu}{g} \right) = \frac{Abbs \times MW \times DF \times V \times 1000 \times v}{\epsilon \times l \times m} \quad (8)$$

donde  $Abbs$  es el diferencial de absorbancias,  $MW$  el peso molecular de Pnd-3,5-diglu (625.4 g/mol),  $DF$  es el factor de dilución,  $V$  es el volumen de la muestra, 1000 es un factor de conversión a mg,  $v$  es el volumen usado para realizar la reconstitución de los polvos,  $\epsilon$  el coeficiente de absortividad molar (36,654 L/cm mol),  $l$  la distancia del paso de luz en la celda (1 cm) y  $m$  es la masa de polvo usado.

### ***Capacidad antioxidante***

La capacidad antioxidante (AC) de los polvos se determinó mediante la inhibición del radical libre DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich, MO, USA). Se mezclaron 100  $\mu$ L de cada muestra con 2000  $\mu$ L de DPPH (solución etanólica 0.04 M). Las mezclas DDPH-muestra, se mantuvieron en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se leyó el valor de la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro Shimadzu, UV-1900i (Tokyo, Japan). El valor de la absorbancia se utilizó para el cálculo del porcentaje de inhibición ( $I\%$ ) utilizando la ecuación (4).

$$I\% = \left( \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{muestra}}{Abs_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (4)$$

donde  $Abs_{DPPH}$  es el valor de la absorbancia del DPPH,  $Abs_{Muestra}$  es la absorbancia de la mezcla DPPH-Muestra después de 30 min. El resultado de la capacidad antioxidante se expresó como mg equivalentes de Trolox (TE) por gramo de muestra (mg TE/g) en base seca (bs) y se calculó con la siguiente ecuación (5).

$$AC \left( \frac{mgTE}{g} \right) = \left( \frac{I\% - b}{m} \right) \times DF \quad (5)$$

donde  $b$  (1.107) es el intercepto y  $m$  (0.780 1/ppm) la pendiente de una curva estándar ( $R^2 = 0.990$ ) con diferentes concentraciones de Trolox (0-100 ppm) y  $DF$  es el factor de dilución de la muestra.

### ***Análisis estadístico***

Todos los resultados obtenidos se expresaron como el promedio  $\pm$  desviación estándar. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras. Las diferencias entre medias fueron determinadas con la prueba de Tukey. Todas las pruebas estadísticas se realizaron el software Minitab 18 (Minitab LLC, USA). El análisis de componentes principales (PCA) se llevó a cabo para observar la relación entre las variables microbiológicas, físicas (humedad,  $a_w$ ,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *Hue*, *Croma* y tamaño de partícula) y antioxidantes (antocianinas monoméricas totales, compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante). El análisis PCA se basó en la correlación de Pearson y fue realizado en R versión 4.1.1 y el entorno de programación Rstudio (versión 1.4.1717, USA), utilizando datos normalizados (valor = (valor- promedio)/desviación estándar) con el método de normalización z-score. Todas las gráficas se elaboraron con el software KyPlot 6.0 (KyensLab Inc, Japan) excepto la gráfica Biplot del análisis de componentes principales (PCA).

## Resultados y discusión

### *Retención de Lacticaseibacillus rhamnosus*

La Tabla 1 muestra el contenido de *Lacticaseibacillus rhamnosus* antes y después de encapsular. Se observa que *L. rhamnosus* puede llevar a cabo la fermentación aun con la adición del extracto de *J. spicigera*. Sin embargo, una mayor cantidad de *L. rhamnosus* cuando la fermentación se lleva a cabo sin la adición de *J. spicigera* y una subsecuente adición. Lo cual puede ocurrir por la existencia de antocianinas (Awad et al., 2015) y otros compuestos fenólicos en el extracto de *J. spicigera* (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017) pueden inhibir o ralentizan el crecimiento de *L. rhamnosus*. Similar a lo observado por Sun et al. (2018), quienes observaron que el incremento en la concentración de antocianinas extraídas de camote morado (*Ipomoea batatas* L.) disminuye la proliferación de bacterias ácido-lácticas como *Bacillus bifidum*, *Bacillus adolescentis*, *Bacillus infantis* y *Lactobacillus acidophilus*. Además, se ha observado que extractos de muicle pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas gram negativas, gram positivas y algunos mohos (Jacobo-Salcedo et al., 2011). También se observó que no existe influencia por el tipo de leche (entera y descremada) en el crecimiento de *L. rhamnosus*. Asimismo, la leche que no fue sometida al proceso de fermentación, pero adicionada con extracto de muicle, no mostró crecimiento de ninguna bacteria o colonia (<10 UFC/mL) en el medio de cultivo *MRS*. La microencapsulación puede ayudar a proteger a las células de factores externos y, además, evitar la pérdida de células probióticas durante el paso intestinal debido a los ácidos biliares (Burgain et al., 2015; Kil et al., 2020). Además, el uso de proteínas lácteas para la encapsulación de probióticos muestra una mejora significativa en la sobrevivencia y

tolerancia de bacterias al ácido biliar (Kil et al., 2020). Se observó una mayor reducción de bacterias probióticas en leches con contenido de grasa reducido o descremada (FSJ) después del secado por aspersión. Esto puede deberse al efecto de la temperatura de transición vítrea, la cual cambia debido al contenido de grasa (Hu et al., 2009); por lo que, ocurre un cambio en la capacidad calorífica ( $C_p$ ), requiriendo mayor cantidad de energía para llevar a cabo la evaporación para obtener las partículas. Sin embargo, en las cuatro muestras fermentadas (FWJ, FSJ, FWSAJ, FSSAJ) adicionadas con extracto de *J. spicigera*, las bacterias probióticas se mantuvieron.

### ***Características de los polvos***

#### ***Humedad y actividad de agua***

En la Tabla 2 se muestran los valores de humedad y  $a_w$  de los diferentes polvos obtenidos. Los valores de humedad y  $a_w$ , para los polvos a base de leche fermentada y sin fermentar se encontraron entre 1.39 - 6.51% y 0.201 - 0.295, respectivamente. Se observaron ligeras variaciones ( $p < 0.05$ ) en ambos parámetros entre los productos fermentados y sin fermentar. Especialmente en la leche sin fermentar, el valor de la humedad fue más bajo comparado con la leche fermentada. Lo cual coincide con lo reportado en trabajos previos, donde el valor de humedad de la leche es igual a 1.5%; sin embargo, varía dependiendo de la temperatura de secado o de la concentración de sólidos en la leche (Langrish et al., 2006; Shrestha et al., 2008). Por otro lado, el contenido de humedad para yogurt en polvo es de 3.5 – 5.0 % dependiendo del contenido de sólidos (Sunitha et al., 2016) o 3.98 a 7.17% dependiendo de las condiciones de secado (Koc et al., 2010). En este trabajo, el valor de  $a_w$ , fue de  $0.468 \pm$



0.034 en el polvo de JM, este valor de  $a_w$  puede deberse a el alto contenido de sólidos en la mezcla de alimentación. Un comportamiento similar ha sido observado por da Costa et al. (2015), quienes evaluaron el efecto de la concentración del agente encapsulante y observaron que la  $a_w$  aumentaba y la humedad disminuía. Bajos valores de  $a_w$  indican que los productos obtenidos son estables a la oxidación (Khwanpruk et al., 2018) o a otros cambios físicos y microbiológicos. Además, valores bajos de  $a_w$  pueden incrementar la vida útil de los probióticos (Muhammad et al., 2021).

**Tabla 1.** Contenido de *Lactocaseibacillus rhamnosus* en solución (antes del secado) y microencapsulado (después del secado) de leche fermentada y sin fermentar adicionada con *J. spicigera*.

Muestra	Antes del secado	Después del secado
	(mezcla líquida)	(polvo)
	Log <sub>10</sub> UFC/mL	Log <sub>10</sub> UFC/g
FWJ <sup>a</sup>	6.81 ± 0.11 bA	6.07 ± 0.35 aB
FSJ <sup>b</sup>	6.79 ± 0.2 bA	4.46 ± 0.12 bB
FWSAJ <sup>c</sup>	7.28 ± 0.05 aA	6.31 ± 0.29 aB
FSSAJ <sup>d</sup>	7.44 ± 0.12 aA	6.38 ± 0.35 aB
WJ <sup>e</sup>	n. d.	n. d.
SJ <sup>e</sup>	n. d.	n. d.
JM <sup>g</sup>	n. d.	n. d.

<sup>a</sup>FWJ: leche entera fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>b</sup>FSJ: leche descremada fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>c</sup>FWSAJ: leche entera fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>d</sup>FSSAJ: leche descremada fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>e</sup>WJ: leche entera sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>f</sup>SJ: leche descremada sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>g</sup>JM: extracto de *J. spicigera* – solución de maltodextrina (12% p/v). ± representa la desviación estándar de n = 3; letras minúsculas en la misma columna significa diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las muestras. Letras mayúsculas en la misma fila representa diferencias ( $p < 0.05$ ) entre antes y después del secado.

**Tabla 2.** Propiedades físicas de las microencapsulados de *Lacticaseibacillus rhamnosus* de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar adicionada con *J. spicigera*.

Sample	Humedad (%)	$a_w$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Hue	Croma
FWJ <sup>a</sup>	3.55 ± 0.73 bc	0.272 ± 0.001 b	68.40 ± 0.64 a	9.36 ± 0.19 b	13.66 ± 0.23 b	55.6 ± 0.1 d	16.56 ± 0.29 c
FSJ <sup>b</sup>	6.51 ± 0.46 a	0.256 ± 0.003 bc	63.74 ± 3.37 ab	9.42 ± 0.42 b	16.13 ± 1.19 a	59.7 ± 0.73 c	18.68 ± 1.24 b
FWSAJ <sup>c</sup>	2.20 ± 0.02 cd	0.201 ± 0.008 d	59.66 ± 0.08 b	14.97 ± 0.01 a	15.35 ± 0.04 ab	45.71 ± 0.04 e	21.44 ± 0.04 a
FSSAJ <sup>d</sup>	4.93 ± 0.60 ab	0.288 ± 0.004 b	63.37 ± 0.01 ab	14.36 ± 0.23 a	14.31 ± 0.27 ab	44.91 ± 0.07 e	20.27 ± 0.35 ab
WJ <sup>e</sup>	1.39 ± 1.06 d	0.222 ± 0.021 cd	51.65 ± 0.37 c	6.12 ± 0.09 cd	-4.02 ± 0.04 c	326.68 ± 0.12 a	7.32 ± 0.1 e
SJ <sup>f</sup>	1.90 ± 0.89 cd	0.295 ± 0.009 b	50.62 ± 0.16 c	6.75 ± 0.04 cd	-6.67 ± 0.01 d	315.34 ± 0.18 b	9.49 ± 0.03 d
JM <sup>g</sup>	3.01 ± 0.29 cd	0.468 ± 0.034 a	52.38 ± 1.46 c	5.66 ± 0.09 d	-5.75 ± 0.04 cd	314.52 ± 0.25 b	8.06 ± 0.09 de

<sup>a</sup>FWJ: leche entera fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>b</sup>FSJ: leche descremada fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>c</sup>FWSAJ: leche entera fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>d</sup>FSSAJ: leche descremada fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>e</sup>WJ: leche entera sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>f</sup>SJ: leche descremada sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>g</sup>JM: extracto de *J. spicigera* – solución de maltodextrina (12% p/v).  $L^*$  = luminosidad (0 = negro, blanco = 100).  $a^*$  = rojo (+) - verde (-).  $b^*$  = azul (-) - amarillo (+). Hue = tono o matiz. Croma = saturación de color. Letras minúsculas en la misma columna significan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras.

### *Características de color*

El color de los polvos obtenidos fue una de las características más destacables ya que el proceso de fermentación generó un cambio en el color de los polvos. Los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *Hue* y *Croma*) se presentan en la Tabla 2. Los polvos obtenidos de la leche fermentada (FWJ, FSJ, FWSAJ y FSSAJ) fueron significativamente ( $p < 0.05$ ) más luminosas ( $L^*$ ), comparadas con las que no lo fueron (WJ, SJ y JM), los cuales no tuvieron diferencias significativas entre ellas ( $p > 0.05$ ). Por otro lado, se observó un cambio significativo ( $p < 0.05$ ) en los valores de  $a^*$ , dependiendo del momento de adición de *J. spicigera* y de la fermentación (si fueron o no fermentadas). En cuanto al parámetro  $b^*$ , las partículas obtenidas de la leche fermentada (FWJ, FSJ, FWSAJ y FSSAJ) fueron positivas, lo que corresponde al color amarillo en el diagrama de color; no obstante, las cápsulas obtenidas sin fermentación presentaron valores negativos en  $b^*$ , estos valores localizan al color de los polvos en el cuadrante que corresponde al color azul en el diagrama de color. Las muestras que fueron fermentadas con *J. spicigera* (FWJ, FSJ) o con la adición subsecuente del extracto (FWSAJ y FSSAJ) presentaron  $a^*$  y  $b^*$  positivos, con diferentes valores de *Hue* ( $0 - 90^\circ$ , rojo a amarillo): rojo pálido – café claro para FWJ; ligeramente naranja, debido a la saturación, para FSJ, ligeramente cobrizo o rojo ladrillo pálido para FWSAJ y FSSAJ. En consecuencia, el momento de adición de antocianinas antes o después de la fermentación afecta al color final del polvo. Por otro lado, para el resto de las muestras WJ, SJ, JM, que no fueron sometidas a ningún proceso de fermentación se observaron tonos morados, similares al color de extractos etanol - agua de *J. spicigera* reportados previamente por Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, (2017). Todos los polvos mostraron una apariencia

lechosa debido a las proteínas de la leche. Con respecto a la pureza o *Croma* (C), los polvos de leche fermentada tuvieron una pureza en el rango de 16.56 – 21.44, más saturado o puro en comparación con los obtenidos de leche sin fermentar (WJ, SJ) o JM con valores entre 7.32 – 9.40, lo cual depende de la luminosidad (0 – 100 de las muestras (Tabla 2)).

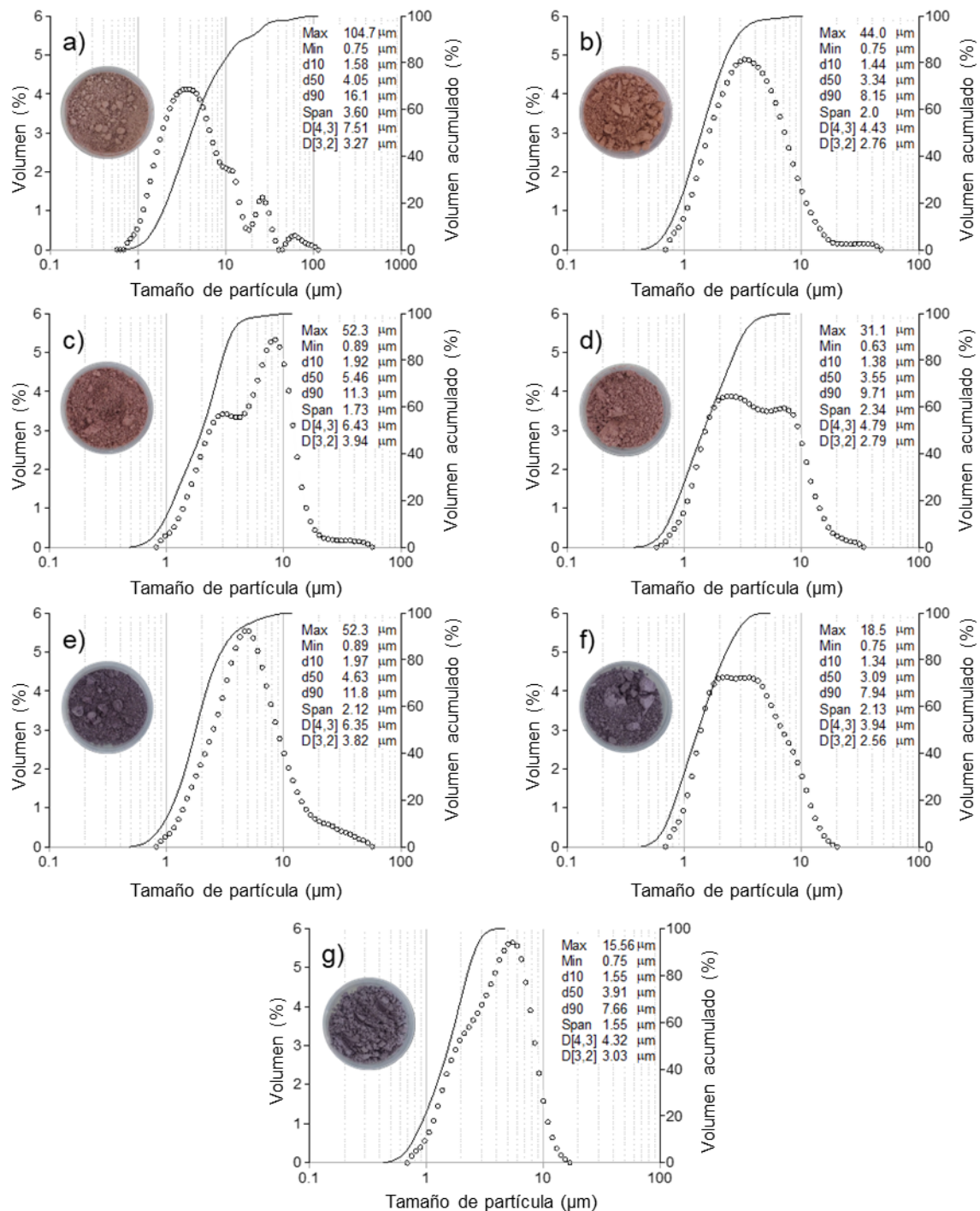
### ***Tamaño de partícula***

La Figura 1 muestra la distribución de partícula para cada formulación. Además, se presentan el diámetro máximo, mínimo, los valores d10, d50, d90, que corresponden al 10, 50 y 90% del diámetro medio volumétrico de las partículas acumuladas. El diámetro D[4,3] y D[3,2], que corresponden al diámetro promedio De Brouckere y al diámetro promedio de Sauter, respectivamente. Para indicar la homogeneidad de las partículas se utilizó el valor de Span.

Los valores mínimos y máximos se encontraron entre 0.63 y 104.7  $\mu\text{m}$ , estos valores corresponden a las muestras FSSAJ (Figura 1d) y FWJ (Figura 1a), respectivamente. El polvo FWJ, presentó una distribución multimodal, con un pico entre 40 y 100  $\mu\text{m}$  (Figura 1a), lo cual es característico de partículas que se aglomeraron (Ferrari et al., 2012; Zotarelli et al., 2017). La muestra FWSAJ (Figura 1c), y FSSAJ (Figura 1d) mostraron distribuciones bimodales. En la muestra FWSAJ, el pico más alto en tamaños entre 8-9  $\mu\text{m}$ . En FSSAJ, el pico más alto se encontró alrededor de 2  $\mu\text{m}$ . El resto de las muestras presentó una distribución unimodal. Respecto a los valores d10, d50 y d90, las muestras obtenidas a partir de leche entera presentaron valores más grandes en comparación con las de contenido de grasa reducido; además estas últimas fueron similares a JM (sin proteínas lácteas). Elversson et al. (2003) mencionan que el tamaño de partícula está influenciado por el diámetro de la

boquilla de aspersión, la concentración de la solución, el flujo de aire de atomización, la velocidad de alimentación, y el tamaño de gota. Dado que la mayoría de estos parámetros se mantuvieron constantes, se puede inferir que tanto el proceso de fermentación como el contenido de grasa en la leche, influyen en el tamaño de partícula. Esto se observa en los diámetros  $D[4,3]$  y  $D[3,2]$ , las muestras bajas en grasa presentaron tamaños menores, de igual forma, en las leches reducidas en grasa. La fermentación resulta en partículas con tamaño más grande. Por otro lado, los valores de span se encontraron entre 1.55 y 2.34, con excepción de FWJ cuyo valor fue más alto (3.60), lo cual indica que las muestras fueron homogéneas en su tamaño (da Costa et al., 2015).

**Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**



**Figura 1.** Distribución de tamaño de partícula de los polvos producidos mediante secado por aspersión de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar. a) FWJ, b) FSJ, c) FWSAJ, d) FSSAJ, e) WJ, f) SJ, g) JM.

### *Compuestos bioactivos de los polvos*

La tabla 3 muestra la capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos totales y de antocianinas para todos los polvos.

### *Compuestos fenólicos totales*

La cantidad de compuestos fenólicos totales en los polvos de las leches fermentadas (Tabla 3) se encontró en el rango de 18.52 – 33.81 mg GAE/g de polvo. La cantidad TPC en los polvos proviene sobre todo de la adición del extracto de *J. spicigera*; sin embargo, la presencia o generación de otros compuestos durante la fermentación podrían aparecer; por ejemplo, compuestos con uno o más anillos aromáticos (Curiel et al., 2015). Este mismo fenómeno ha sido observado por otros autores en la fermentación de antocianinas de diferentes fuentes con bacterias ácido-lácticas (Curiel et al., 2015; Yan et al., 2019). En este estudio, se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el contenido de TPC entre las muestras con diferentes tipos de leche y debido al proceso de fermentación. La cantidad de fenoles fue ligeramente mayor en las muestras que fueron fermentadas (FWJ, FSJ, FWSAJ, FSSAJ), en especial las que fueron obtenidas con leche entera (FWJ, FWSAJ). La leche entera contiene una mayor cantidad de compuestos fenólicos comparada con la leche descremada (Tsen et al., 2014). Por otro lado, en las muestras donde no se llevó a cabo la fermentación como WJ ( $19.76 \pm 0.46$  mg GAE/g de polvo) tuvo una menor cantidad comparado con SJ ( $23.65 \pm 1.44$  mg GAE/g de polvo) aunque esta no fue significativa ( $p > 0.05$ ). Esto se puede atribuir a la degradación térmica y menor protección de los compuestos. No obstante, el contenido de fenoles fue mayor en todas las muestras comparado con JM.

**Tabla 3.** Compuestos bioactivos de los microencapsulados de *Lacticaseibacillus rhamnosus* de leche entera y descremada, fermentada o no fermentada adicionada con *J. spicigera*.

Muestra	Fenoles totales <sup>a</sup>	Antocianinas totales <sup>b</sup>	Capacidad antioxidante <sup>c</sup>
FWJ <sup>d</sup>	33.81 ± 2.61 a	0.27 ± 0.05 b	20.41 ± 2.64 a
FSJ <sup>e</sup>	22.27 ± 2.65 bc	0.52 ± 0.01 ab	17.78 ± 1.48 ab
FWSAJ <sup>f</sup>	21.48 ± 1.27 bcd	0.29 ± 0.18 b	15.46 ± 0.13 abc
FSSAJ <sup>g</sup>	18.52 ± 0.7 cd	0.62 ± 0.02 a	14.13 ± 0.48 bc
WJ <sup>h</sup>	19.76 ± 0.46 bcd	0.46 ± 0.17 ab	11.5 ± 2.12 c
SJ <sup>i</sup>	23.65 ± 1.44 b	0.64 ± 0.14 a	13.84 ± 1.45 bc
JM <sup>j</sup>	16.96 ± 1.41 d	0.34 ± 0.08 ab	10.18 ± 0.18 c

<sup>a</sup> mg GAE/g de polvo bs; <sup>b</sup> mg Pnd-3,5-diglu/g de polvo bs; <sup>c</sup> mg TE/g de polvo bs; Letras minúsculas diferentes en la misma columna significan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras.

<sup>d</sup>FWJ: leche entera fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>e</sup>FSJ: leche descremada fermentada - extracto de *J. spicigera*. <sup>f</sup>FWSAJ: leche entera fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>g</sup>FSSAJ: leche descremada fermentada con la adición subsecuente del extracto de *J. spicigera*. <sup>h</sup>WJ: leche entera sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>i</sup>SJ: leche descremada sin fermentar – extracto de *J. spicigera*. <sup>j</sup>JM: extracto de *J. spicigera* – solución de maltodextrina (12% p/v)

### **Contenido de antocianinas**

El contenido de antocianinas en los microencapsulados estuvo en el rango de 0.27 – 0.64 mg Pnd-3,5-diglu/g de polvo (Tabla 3). La mayor concentración de antocianinas se observó en las muestras SJ y FSSAJ. Por el contrario, las muestras con menor contenido de antocianinas fueron FWJ y FWSAJ; por lo que, el tipo de leche afectó en mayor medida a las antocianinas y no el proceso de fermentación. En este estudio, ligeras diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) se observaron en el contenido de antocianinas, especialmente por el tipo de leche, entera y descremada. Se observó que los polvos obtenidos con leche entera tuvieron una mayor

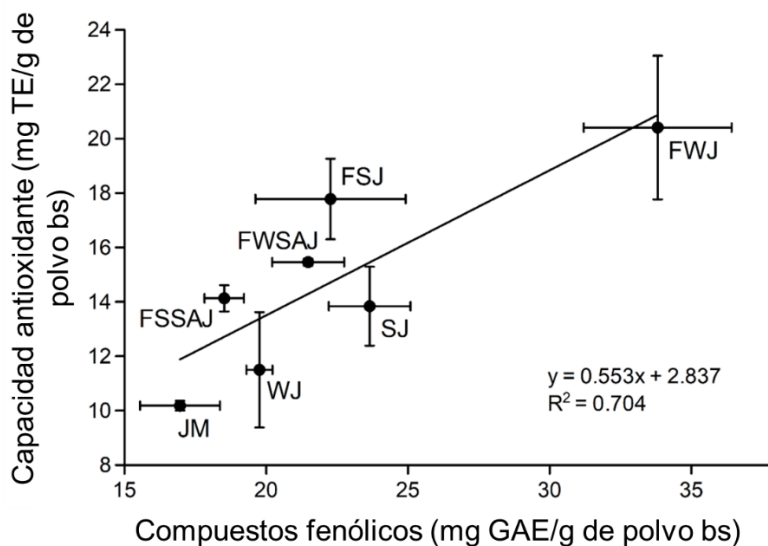


degradación de los pigmentos lo cual puede deberse a diferentes razones: a) un mayor flujo de calor durante la deshidratación de la gota generada y/o diferencias en el calor específico (Cp), ya que leche descremada no requiere calor latente para el cambio de fase (Hu et al., 2009); b) la misma polaridad de los compuestos, ya que las antocianinas son altamente polares y la leche con alto contenido en grasa les daría menos estabilidad. Además, se ha reportado que las proteínas de la caseína pueden interactuar con las antocianinas mediante puentes de hidrógenos o reacciones hidrofóbicas, formando complejos que los hace más estables a la temperatura, oxidación y a la luz (He et al., 2016). Awad et al. (2015) encontraron diferentes tipos de antocianinas en el extracto de *J. spicigera* obtenido con acetato de etilo, siendo la peonidina 3,5-diglucosido la que se encontró en mayor concentración, seguido por malvidina 3,5-diglucosido. No obstante, la concentración de las diferentes antocianinas extraídas pudo variar debido a la polaridad de los solventes (Bosiljkov et al., 2017; Cvjetko Bubalo et al., 2016).

### ***Capacidad antioxidante***

La capacidad antioxidante de los polvos obtenidos de leche fermentada se encontró entre 14.13 – 20.41 mg TE/g de polvo. Para los polvos de leche sin fermentar y JM estuvieron en el rango de 10.18 – 13.84 mg TE/g de polvo (Tabla 3). Se observaron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las muestras. El proceso de fermentación incrementó la capacidad antioxidante de los polvos; esto ha sido observado por otros autores, donde la fermentación con bacterias ácido-lácticas aumenta la capacidad antioxidante (Curiel et al., 2015; Hunaefi et al., 2013; Yan et

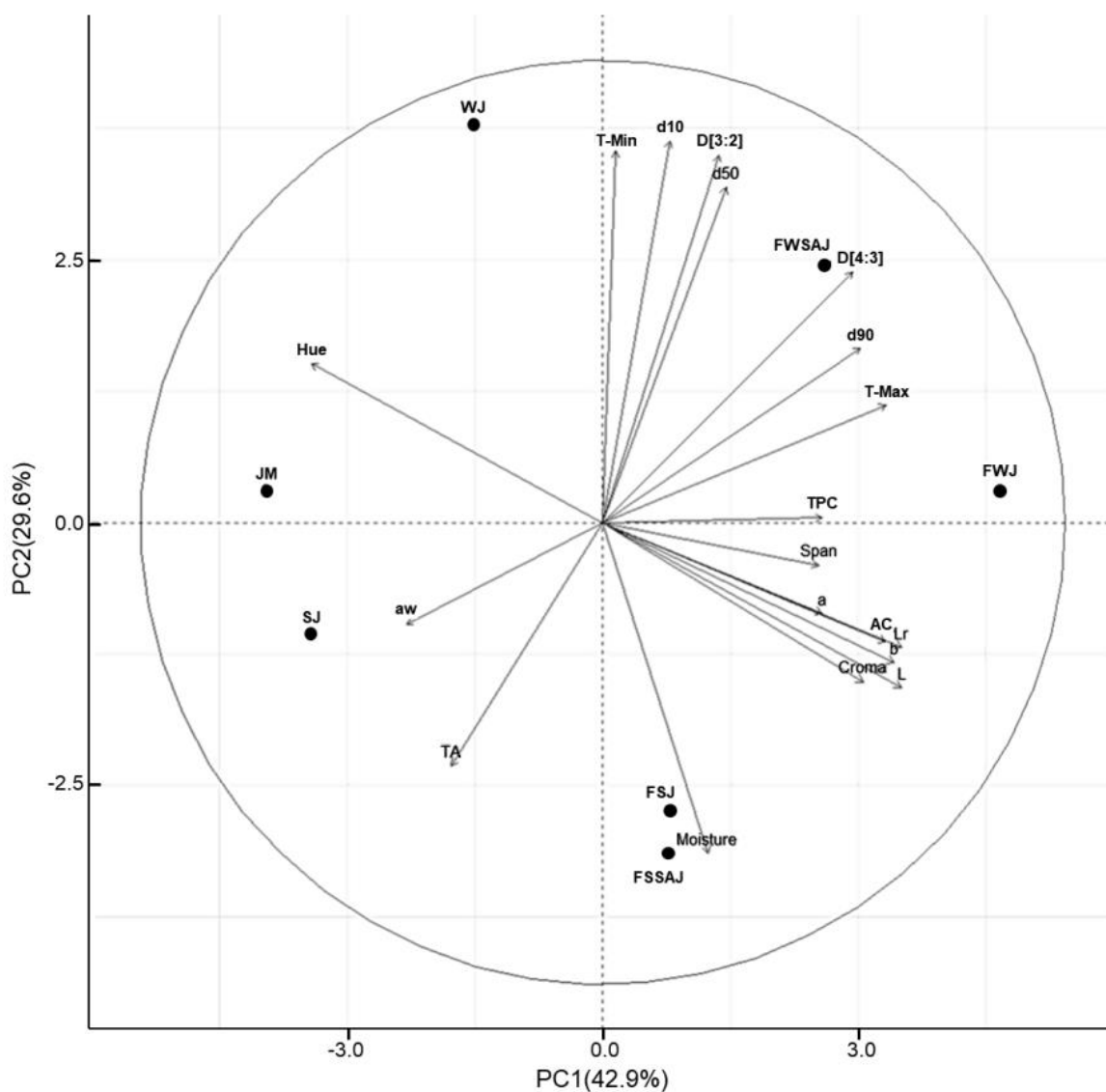
al., 2019). Los cambios en la capacidad antioxidante podría deberse a diferentes caminos: i) la formación de péptidos bioactivos de las proteínas, los cuales se han relacionado con la quelación de iones metálicos, la eliminación de radicales libres y la extinción de oxígeno libre (Pihlanto, 2013; Tadesse & Emire, 2020), ii) la influencia de otros compuestos fenólicos, además de las antocianinas (Figura 2), iii) la presencia de micelas de caseína (Sharma et al., 2008) y iv) algunas reacciones ocurridas durante el secado, como reacciones de Maillard (Perusko et al., 2021; Wang et al., 2011), debido a la formación de melanoidinas (Wang et al., 2011), influyen en la capacidad antioxidante de los polvos. Lo cual se hace evidente comparado con la muestra JM.



**Figura 2.** Correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de los microencapsulados de leche entera y descremada, fermentada y sin fermentar adicionada con *J. spicigera*.

### *Análisis de componentes principales (PCA)*

Todos los datos obtenidos que fueron descritos anteriormente fueron analizados con herramientas estadísticas para observar diferencias debido a la formulación en las microcápsulas (Figura 3). El análisis PCA se realizó para establecer una relación entre el tipo de leche, la fermentación y el momento de adición de *J. spicigera* y la relación de las características microbiológicas, físicas y antioxidantes de los extractos microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión. Basados en las características microbiológicas, físicas y antioxidantes, las muestras se agruparon en 4 grupos de acuerdo con el análisis de “clusters”. En el primer grupo se encontraron los datos de los polvos FWSAJ y FWJ con un 52.73% de similitud, en el segundo grupo los datos de las muestras FSJ y FSSAJ (89.45% de similitud), en el tercer grupo se encontraron los datos de JM y SJ (80.70% similitud) y la muestra WJ únicamente en el cuarto grupo. Los resultados obtenidos por el análisis PCA (Figura 3) mostraron que las variables podían ser reducidas a dos componentes, los cuales explicaban el 72.5% de la variabilidad de los datos experimentales. El primer componente (PC1) representó el 42.9% de la variabilidad, mientras que el segundo componente (PC2) el 29.6%. PC1 está representado por algunos parámetros de color ( $L^*$ ,  $b^*$ , Hue, Cromo), de tamaño (diámetro máximo,  $d_{90}$  y  $D[4:3]$ ), y la capacidad antioxidante. PC2 esta representado por el tamaño (diámetro mínimo,  $d_{10}$ ,  $d_{50}$ ,  $D[3:2]$ ) y la humedad.



**Figura 3.** Biplot del análisis de componentes principales (PCA) para los polvos FWJ, FSJ, FWSAJ, FSSAJ, WJ, SJ, JM. Las variables incluyeron características físicas (humedad (moisture), actividad de agua (aw), luminosidad (L), rojo-verde (a), amarillo-verde (b), matiz o tono (*Hue*), saturación de color (*Croma*)), de tamaño de partícula (tamaño mínimo (T-min), tamaño máximo (T-max), d10, d50, d90, Span, distribución de tamaño de partícula (D[4, 3] y D[3, 2]), antioxidantes (capacidad antioxidante (AC), compuestos fenólicos totales (TPC), antocianinas totales (TA)), y microbiológicas (*Lacticaseibacillus rhamnosus* (Lr)). Cada línea representa la intensidad o magnitud para cada componente.

En la Figura 3 también se observa que la capacidad antioxidante está corelacionada con  $a^*$ , y el contenido de *L. rhamnosus* (o el proceso de fermentación). Lo anterior puede deberse a que entre mayor saturación de color existen una mayor cantidad de compuestos con capacidad antioxidante o al cambio en la estructura de la molécula debido al pH del medio: a pH ácidos (resultantes de la fermentación) la forma flavilo predomina y es a la que se le relaciona con una alta capacidad antioxidante (Tena et al., 2020). Además, el proceso de fermentación genera otros compuestos con capacidad antioxidante.

Por otro lado, se observó una relación inversa entre el tamaño de partícula (especialmente, partículas pequeñas) y la humedad. Ya que un mayor número de partículas pequeñas representa mayor área superficial, y mayor humedad superficial (Hann & Stražičar, 2007). De forma similar, la  $a_w$  presentó una correlación inversa con el tamaño de partícula (especialmente, partículas grandes). Lo cual puede explicarse debido a que partículas finas o pequeñas tienden a unirse entre ellas mediante otras fuerzas como van der Waals o cohesivas, lo cual podría limitar el agua disponible sobre la superficie de la partícula. Se observa también que en las muestras FSJ y FSSAJ tiene los valores más altos en humedad, alta  $a_w$  y tamaños de partícula más pequeños en comparación con que el resto de las muestras. FWSAJ y FWJ se caracterizan por tener tamaños de partícula grandes y contenidos de humedad bajos comparados con FSJ y FSSAJ.

Por otro lado, como se mencionó en secciones anteriores, la capacidad antioxidante se vio influenciada por el contenido total de fenoles (Figura 2) y no sólo por las antocianinas. Una de las muestras que presentó mayor contenido de fenoles fue WAF (Figura 3).

Finalmente, las muestras que tuvieron un proceso de fermentación se encontraron en el lado opuesto a las que no se fermentaron o JM indicando que presentan diferentes características entre ellas, especialmente en el parámetro de *Hue*, ya que WJ, SJ y JM tuvieron valores alrededor de 320°. Las muestras fermentadas FWSAJ, FWJ, FSJ, FSSAJ con valores de *Hue* cercanos a 55°.

## **Conclusión**

Todos los polvos adicionados con el extracto que fueron fermentados (FWJ y FSJ) y los no fermentados junto con el extracto (FWSAJ y FSSAJ) retuvieron más de 4 Log<sub>10</sub> de *L. rhamnosus* (UFC/g) al final del proceso. La adición de *J. spicigera* después de la fermentación incrementó el crecimiento de *L. rhamnosus*. La fermentación de la leche cambió el *Hue* de los polvos de morado (sin fermentación) a rojizo debido al cambio en el pH que modifica la estructura de las antocianinas. Todas las muestras (excepto JM) podrían ser altamente estables debido a su baja actividad de agua ( $a_w < 0.30$ ). El bajo contenido de grasa en la leche incrementó el contenido de antocianinas en los polvos. La muestra o el polvo FWJ tuvo el mayor contenido de compuestos fenólicos totales. El Análisis de Componentes Principales mostró que el tipo de leche y el proceso de fermentación separó a los polvos en cuatro grupos debido a sus características físicas y antioxidantes y al contenido de compuestos fenólicos y a la capacidad antioxidante. Se observó una correlación directa entre el color y la capacidad antioxidante y una correlación inversa entre el tamaño de partícula y la humedad y  $a_w$ .

## **Declaraciones**

### *Declaración de contribución del autor*

Jiménez-González: Concebido y diseñado los experimentos; Realizado los experimentos; Analizado e interpretado los datos, Escribió el artículo.

Guerrero-Beltrán: Analizó e interpretó los datos; Aportó reactivos, herramientas de análisis de materiales o datos; Escribió el artículo.

### *Financiación*

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de organismos de financiación del sector público, comercial o sin ánimo de lucro.

### *Declaración de disponibilidad de datos*

Datos incluidos en el artículo/material suplementario/referidos en el artículo.

### *Declaración de intereses*

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### *Información adicional*

No hay información adicional disponible para este artículo.

## Referencias

- Alvarez-Poblano, L., Roman-Guerrero, A., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2020). Exogenous addition of muicle (*Justicia spicigera* Schechtendal) extract to white maize tortillas affects the antioxidant activity, texture, color, and in vitro starch digestibility. *LWT*, *133*, 110120. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110120>
- Anekella, K., Orsat, V. 2013. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT-Food Sci. Technol.*, *50*(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.003>
- Arberet, L., Pottier, F., Michelin, A., Nowik, W., Bellot-Gurlet, L., & Andraud, C. (2021). Spectral characterisation of a traditional Mesoamerican dye: Relationship between in situ identification on the 16 th century Codex Borbonicus manuscript and composition of *Justicia spicigera* plant extract. *The Analyst*, *146*(8), 2520–2530. <https://doi.org/10.1039/D1AN00113B>
- Awad, N. E., Abdelkawy, M. A., Hamed, M. A., Souleman, A. M. A., Abdelrahman, E. H., & Ramadan, N. S. (2015). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Justicia spicigera* ethyl acetate fraction and characterization of its anthocyanin content. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 91–96.
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2014). Uses of *Justicia spicigera* in medicine and as a source of pigments. *Functional Foods in Health and Disease*, *4*(9), 401. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v4i9.150>
- Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food Chemistry*, *218*, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>
- Beristain, C. I., Azuara, E., & Vernon-Carter, E. J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis Juliflora*) as wall material. *Journal of Food Science*, *67*(1), 206–211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11385.x>
- Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, F. (2019). Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de Microbiología*, *51*(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.05.002>
- Bolea, C.-A., Cotârleț, M., Enachi, E., Barbu, V., Stănciuc, N. 2021. Co-Microencapsulated black rice anthocyanins and lactic acid bacteria: Evidence on powders profile and in vitro digestion. *Molecules*, *26*(9), 2579. <https://doi.org/10.3390/molecules26092579>
- Bosiljkov, T., Dujmić, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M., Zlatic, E., Radojčić Redovniković, I., & Jokić, S. (2017). Natural deep eutectic solvents and



- ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing*, 102, 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.12.005>
- Bubalo, M.C., Čurko, N., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K., Radojčić Redovniković, I., 2016. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chem.* 200, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.040>
- Burgain, J., Corgneau, M., Scher, J., & Gaiani, C. (2015). Encapsulation of Probiotics in Milk Protein Microcapsules. In *Microencapsulation and Microspheres for Food Applications* (pp. 391–406). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800350-3.00019-4>
- Casanova-González, E., García-Bucio, A., Ruvalcaba-Sil, J. L., Santos-Vasquez, V., Esquivel, B., Falcón, T., Arroyo, E., Zetina, S., Roldán, M. L., & Domingo, C. (2012). Surface-enhanced Raman spectroscopy spectra of Mexican dyestuffs. *Journal of Raman Spectroscopy*, 43(11), 1551–1559. <https://doi.org/10.1002/jrs.4086>
- Chan-Bacab, M. J., Sanmartín, P., Camacho-Chab, J. C., Palomo-Ascanio, K. B., Huitz-Quimé, H. E., & Ortega-Morales, B. O. (2015). Characterization and dyeing potential of colorant-bearing plants of the Mayan area in Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Cleaner Production*, 91, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.12.004>
- Coultate, T., & Blackburn, R. S. (2018). Food colorants: Their past, present and future. *Coloration Technology*, 134(3), 165–186. <https://doi.org/10.1111/cote.12334>
- Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G. A., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries. *Microbial Cell Factories*, 14, 67. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0250-4>
- da Costa, J. M. G., Silva, E. K., Toledo Hijo, A. A. C., Azevedo, V. M., Malta, M. R., Ferreira Alves, J. G. L., & Borges, S. V. (2015). Microencapsulation of Swiss cheese bioaroma by spray-drying: Process optimization and characterization of particles. *Powder Technology*, 274, 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.01.037>
- Elversson, J., Millqvist-Fureby, A., Alderborn, G., & Elofsson, U. (2003). Droplet and particle size relationship and shell thickness of inhalable lactose particles during spray drying. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92(4), 900–910. <https://doi.org/10.1002/jps.10352>
- Fan, G., Han, Y., Gu, Z., & Gu, F. 2008. Composition and colour stability of anthocyanins extracted from fermented purple sweet potato culture. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1412–1416. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.09.003>
- Filannino, P., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. 2018. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: Get out of the labyrinth. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 49, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.016>

- Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., Vissotto, F. Z., & de Aguirre, J. M. (2012). Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying: Spray drying of blackberry pulp. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(6), 1237–1245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02964.x>
- García-Ríos, R. I., Mora-Pérez, A., González-Torres, D., Carpio-Reyes, R. de J., & Soria-Fregozo, C. (2019). Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam. *Phytomedicine*, 55, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.007>
- Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (2016). Colors: Properties and Determination of Natural Pigments. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 273–283). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00189-6>
- Hann, D., & Stražičar, J. (2007). Influence of particle size distribution, moisture content, and particle shape on the flow properties of bulk solids. *Instrumentation Science & Technology*, 35(5), 571–584. <https://doi.org/10.1080/10739140701540453>
- He, Z., Xu, M., Zeng, M., Qin, F., & Chen, J. (2016). Interactions of milk  $\alpha$ - and  $\beta$ -casein with malvidin-3-*O*-glucoside and their effects on the stability of grape skin anthocyanin extracts. *Food Chemistry*, 199, 314–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.035>
- Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., & Dębski, H. (2008). anthocyanins of fruits and vegetables—their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68(1), 5–22. <https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>
- Hu, J., Sari, O., Eicher, S., & Rija Rakotozanakajy, A. (2009). Determination of specific heat of milk at different fat content between 1°C and 59°C using micro DSC. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 395–399. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.009>
- Hunaefi, D., Gruda, N., Riedel, H., Akumo, D. N., Saw, N. M. M. T., & Smetanska, I. (2013). Improvement of antioxidant activities in red cabbage sprouts by lactic acid bacterial fermentation. *Food Biotechnology*, 27(4), 279–302. <https://doi.org/10.1080/08905436.2013.836709>
- Jacobo-Salcedo, M. del R., Alonso-Castro, A. J., Salazar-Olivo, L. A., Carranza-Alvarez, C., González-Espíndola, L. Á., Domínguez, F., Maciel-Torres, S. P., García-Lujan, C., González-Martínez, M. del R., Gómez-Sánchez, M., Estrada-Castillón, E., Zapata-Bustos, R., Medellín-Milán, P., & García-Carrancá, A. (2011). Antimicrobial and cytotoxic effects of Mexican medicinal plants. *Natural Product Communications*, 6(12), 1934578X1100601. <https://doi.org/10.1177/1934578X1100601234>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021). Extraction, microencapsulation, color properties, and experimental design of natural pigments obtained by spray drying. *Food Engineering Reviews*, 13, 769–811. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7>

- Kallam, K., Appelhagen, I., Luo, J., Albert, N., Zhang, H., Deroles, S., Hill, L., Findlay, K., Andersen, Ø. M., Davies, K., & Martin, C. (2017). Aromatic decoration determines the formation of anthocyanin vacuolar inclusions. *Current Biology*, 27(7), 945–957. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.027>
- Khwanpruk, K., Akkaraphenphan, C., Wattananukit, P., Kaewket, W., & Chusai, S. (2018). Effect of drying air condition and feed composition on the properties of orange juice spray dried powder. *MATEC Web of Conferences*, 192, 03013. <https://doi.org/10.1051/matecconf/201819203013>
- Kil, B. J., Yoon, S. J., Yun, C.-H., & Huh, C.-S. (2020). The effect of milk protein on the biological and rheological properties of probiotic capsules. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(12), 1870–1875. <https://doi.org/10.4014/jmb.2008.08007>
- Koc, B., Yilmazer, M. S., Balkır, P., & Ertekin, F. K. (2010). Spray drying of yogurt: optimization of process conditions for improving viability and other quality attributes. *Drying Technology*, 28(4), 495–507. <https://doi.org/10.1080/07373931003613809>
- Langrish, T. A. G., Marquez, N., & Kota, K. (2006). An investigation and quantitative assessment of particle shape in milk powders from a laboratory-scale spray dryer. *Drying Technology*, 24(12), 1619–1630. <https://doi.org/10.1080/07373930601031133>
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., Eisele, T., Giusti, M. M., Hach, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D. A., Kupina, S., Martin, S. K., Martinsen, B. K., Miller, T. C., Paquette, F., Ryabkova, A., Skrede, G., Trenn, U., & Wightman, J. D. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Lima, E. M. F., Madalão, M. C. M., dos Santos, W. C., Bernardes, P. C., Saraiva, S. H., & Silva, P. I. (2019). Spray-dried microcapsules of anthocyanin-rich extracts from *Euterpe edulis* M. as an alternative for maintaining color and bioactive compounds in dairy beverages. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4147–4157. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03885-5>
- Muhammad, Z., Ramzan, R., Zhang, R., & Zhang, M. (2021). Resistant starch-based edible coating composites for spray-dried microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus*, comparative assessment of thermal protection, in vitro digestion and physicochemical characteristics. *Coatings*, 11(5), 587. <https://doi.org/10.3390/coatings11050587>
- Perusko, M., Ghnimi, S., Simovic, A., Stevanovic, N., Radomirovic, M., Gharsallaoui, A., Smiljanic, K., Van Haute, S., Stanic-Vucinic, D., & Cirkovic Velickovic, T. (2021). Maillard reaction products formation and antioxidative power of spray dried camel milk powders increases with the inlet temperature of drying. *LWT*, 143, 111091. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111091>

- Pihlanto, A., 2013. Lactic fermentation and bioactive peptides. In: J.M. Kongo (Ed.), *Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, Ch. 13, InTechOpen, London. <https://doi.org/10.5772/51692>
- Real-Sandoval, S. A., Gutiérrez-López, G. F., Domínguez-López, A., Paniagua-Castro, N., Michicotl-Meneses, M. M., & Jaramillo-Flores, M. E. (2020). Downregulation of proinflammatory liver gene expression by *Justicia spicigera* and kaempferitrin in a murine model of obesity-induced by a high-fat diet. *Journal of Functional Foods*, 65, 103781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103781>
- Sarı, A., Şahin, H., Özsoy, N., & Özbek Çelik, B. (2019). Phenolic compounds and in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities of *Scorzonera hieraciifolia* Hayek roots. *South African Journal of Botany*, 125, 116–119. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.009>
- Sharma, V., Vijay Kumar, H., & Jagan Mohan Rao, L. (2008). Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International*, 41(2), 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.009>
- Shori, A. B. (2015). The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 423–431. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.09.010>
- Shrestha, A. K., Howes, T., Adhikari, B. P., & Bhandari, B. R. (2008). Spray drying of skim milk mixed with milk permeate: effect on drying behavior, physicochemical properties, and storage stability of powder. *Drying Technology*, 26(2), 239–247. <https://doi.org/10.1080/07373930701831663>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, Volume 299, pp. 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sun, H., Zhang, P., Zhu, Y., Lou, Q., & He, S. (2018). Antioxidant and prebiotic activity of five peonidin-based anthocyanins extracted from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Scientific Reports*, 8(1), 5018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23397-0>
- Sun, X., Shokri, S., Gao, B., Xu, Z., Li, B., Zhu, T., Wang, Y., & Zhu, J. (2022). Improving effects of three selected co-pigments on fermentation, color stability, and anthocyanins content of blueberry wine. *LWT-Food Sci. Technol.*, 156, 113070. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113070>
- Sunitha, B., Bhavya, J. N., Arvind, G., Anusha, Sk. F., K., & Technology, C. of F. S. (2016). Production of powdered yoghurt by spray drying. *International Journal of*

- Engineering Research & Technology*, 5(5), 668-678. <https://doi.org/10.17577/IJERTV5IS050791>
- Syngai, G. G., Gopi, R., Bharali, R., Dey, S., Lakshmanan, G. M. A., & Ahmed, G. (2016). Probiotics—The versatile functional food ingredients. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 921–933. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2011-0>
- Tadesse, S.A., Emire, S.A., 2020. Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market. *Heliyon*, 6(8), e04765. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04765>
- Tena, N., Martín, J., & Asuero, A. G. (2020). State of the art of anthocyanins: antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants*, 9(5), 451. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>
- Tsen, S. Y., Siew, J., Lau, E. K. L., Afiqah bte Roslee, F., Chan, H. M., & Loke, W. M. (2014). Cow's milk as a dietary source of equol and phenolic antioxidants: Differential distribution in the milk aqueous and lipid fractions. *Dairy Science & Technology*, 94(6), 625–632. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0183-4>
- Varzakas, T., Kandyliis, P., Dimitrellou, D., Salamoura, C., Zakynthinos, G., & Proestos, C. (2018). Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, GMOs, and superfood. In *Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods* (pp. 67–129). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101892-7.00006-7>
- Wang, H.-Y., Qian, H., & Yao, W.-R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), 573–584. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.075>
- Yan, Y., Zhang, F., Chai, Z., Liu, M., Battino, M., & Meng, X. (2019). Mixed fermentation of blueberry pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: Enhance the active ingredient, antioxidant activity and health-promoting benefits. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.049>
- Zapata-Morales, J. R., Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Carranza-Álvarez, C., Castellanos, L. M. O., Martínez-Medina, R. M., & Pérez-Urizar, J. (2016). Antinociceptive activity of an ethanol extract of *Justicia spicigera*. *Drug Development Research*, 77(4), 180–186. <https://doi.org/10.1002/ddr.21307>
- Zhang, Q., Gonzalez de Mejia, E., Luna-Vital, D., Tao, T., Chandrasekaran, S., Chatham, L., Juvik, J., Singh, V., & Kumar, D. (2019). Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. *Food Chemistry*, 289, 739–750. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.116>
- Zhang, Y., Li, B., & Han, L. (2017). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* KLDS 1.0391 by electrostatic spray increases viability after *In vitro* digestibility. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12416. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12416>

Zotarelli, M. F., da Silva, V. M., Durigon, A., Hubinger, M. D., & Laurindo, J. B. (2017). Production of mango powder by spray drying and cast-tape drying. *Powder Technology*, 305, 447–454. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.10.027>

## Capítulo V

### ***Diospyros digyna* (Zapote negro) Mexican unappreciated fruit: A review**

#### **Resumen**

*Diospyros digyna* (zapote negro) es una fruta de la familia *Ebenaceae*. Su cultivo está centrado en diferentes regiones de América, particularmente en México, donde es originario. El uso principal de esta fruta es para consumo directo o como ingrediente para hacer postres. A pesar de sus características nutricionales, su tasa de consumo es muy baja, lo que brinda una oportunidad para crear nuevos productos listos para comer o procesados. Algunos compuestos encontrados en la fruta, como los compuestos fenólicos y los carotenoides, le dan su característico color marrón oscuro. Debido al contenido de vitamina C, vitamina E y calcio, entre otros nutrientes, el zapote negro podría considerarse un alimento funcional. Esta revisión describe diferentes aspectos de la fruta: su origen, los cambios en sus características fisicoquímicas durante el crecimiento y maduración de la fruta, los pigmentos y las características sensoriales, bioactivas y nutricionales. También resume diferentes estudios que mencionan su uso para tratar algunas dolencias y su uso como antimicrobiano.

Palabras clave: zapote negro, *Diospyros digyna*, composición, compuestos bioactivos, usos de la fruta

#### **Introducción**

El género *Diospyros* pertenece la familia de las *Ebenaceae* (Arvizu-Barrón et al., 2015; Osorio-Beristain et al., 2017; Ricker et al., 2016), estudios fitogenéticos han demostrado su relación con otras especies como *Euclea* y *Royena* (presentes en África) (Contreras & Lersten, 1984; Duangjai et al., 2009), comprende entre 400 y 500 especies diferentes

distribuidas alrededor del mundo (Duangjai et al., 2009). La región con mayor número de especímenes es Asia con 300 especies, seguido por toda la región de las Américas (Sur, Centro y Norteamérica) con 100 especies (Duangjai et al., 2009), de las cuales 20 se encuentran en el territorio mexicano (García Díaz et al., 2015).

Muchas especies del género *Diospyros* L. son capaces de producir frutos, pero no todos son comestibles (Duangjai et al., 2009), de los frutos más estudiados son *Diospyros kaki* (Asia, China Japón), *Diospyros virginiana* (Norte América), *Diospyros lotus* (*date plum*), *Diospyros blancoi* (*mabolo*), y *Diospyros digyna* (zapote negro o *black sapote*) (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 2019), siendo este último la especie más importante, aprovechada y comercializada en México (García Díaz et al., 2015).

La importancia del cultivo y consumo de los frutos de *Diospyros* se debe a varios aspectos, por ejemplo, las raíces, madera, hojas, frutos y semillas poseen propiedades medicinales (Duangjai et al., 2009) contra enfermedades como es asma, dermatitis, hipertensión, aterosclerosis, lumbago, hemorragias, insomnio, digestivo, entre otras (Rauf et al., 2015), además, a los frutos se les ha asociado con mejorar padecimientos como la fiebre, reducir el azúcar en sangre en personas con diabetes tipo 2, o contra la constipación actuando como laxante (Dewanjee et al., 2011; Rauf et al., 2015).

Durante los últimos años la producción nacional rondó las 15 mil toneladas anuales con un valor monetario de 4000 mil pesos mexicanos por tonelada (SIAP, 2020), muchas de las cuales se pierden debido al desinterés en la venta por el bajo consumo; además, pese que se ha mencionado que no es susceptible a enfermedades o plagas (Janick & Paull, 2008), algunos estudios sugieren que puede actuar como habitad para *Bephratelloides*



*ablusus*, los cuales se consideran una plaga (Castañeda-Vildózola et al., 2011), a los mosquitos de los cítricos (*Homoptera: Aleyrodidae*) (Dowell & Steinberg, 1979) o larvas de *Hypocala andremona* en el follaje (Hallman & Knight, 1993).

En este contexto, el objetivo de esta revisión es enlistar el conocimiento actual acerca del fruto, su composición química, compuestos funcionales y aromáticos. Además, los usos que tiene el fruto, desde su consumo hasta algunas aplicaciones.

### **Zapote negro (*Diospyros digyna*)**

Se desconoce su origen exacto, pero dadas las evidencias se presume que es originaria de México (Dressler, 1953) y fue llevada por los españoles a las filipinas (Janick & Paull, 2008). Actualmente se le puede encontrar con mayor presencia en México y Centroamérica (Carranza-González, 2000; Janick & Paull, 2008). Es común encontrarlo zonas tropicales y subtropicales (García Díaz et al., 2015), su crecimiento se ve sobre todo a orillas de ríos o zonas húmedas (García Díaz et al., 2015; Pacheco, 1981). Su producción y consumo es común en zonas al sur del país de México en especial como Oaxaca, Chiapas, Yucatán (Cauich et al., 2017; Lim, 2012; Moo-Huchin et al., 2014; Pérez & Casasola, 2015), Veracruz, Tabasco, Guerrero, Puebla (Gastélum-Reynoso et al., 2008; Lim, 2012; Pérez & Casasola, 2015), Jalisco, Nayarit, Campeche, Tabasco, Michoacán (Pérez & Casasola, 2015) y se han adentrado a zonas montañosas y templadas al centro del país como en Querétaro (Villaseñor, 2016), e incluso en estados como Baja California Sur (de Grenade et al., 2016).

Los frutos de zapote negro son altamente climatéricos y perecederos (Gastélum-Reynoso et al., 2008), por lo que su comercialización debe ser a los pocos días de su cosecha.

Son apreciados debido a su dulzor, alta cantidad de vitamina C y calcio (Carranza-González, 2000). Sin embargo, se le considera desagradable o poco atractivo debido a la coloración negra en la pulpa (Dressler, 1953; Janick & Paull, 2008), por el contrario, Yahia & Gutierrez-Orozco (2011) menciona que es ampliamente aceptado debido a sus características sensoriales (visuales y de sabor) y que además puede ser un ejemplo de un fruto que puede ser comercializado como fruta exótica. Además, debido a su alta cantidad de polifenoles con alta capacidad antioxidante, su consumo junto con otros alimentos por personas en zonas rurales podría equipararse con la dieta mediterránea (Hervert-Hernández et al., 2011).

### ***Descripción***

El árbol del fruto puede crecer de los 6 a los 25 m de altura y el diámetro del troco de 1 hasta 2.4 m, tiene hojas color verde olivo de forma elíptica que pueden llegar a medir hasta 18 cm, posee nectarios e inflorescencias masculinas y femeninas, sus flores son blancas o color crema (Contreras & Lersten, 1984; Pacheco, 1981). El fruto es una baya de forma globosa del tamaño de un melocotón (2 a 8 cm de diámetro), el pericarpio es delgado y de color verde brillante que se oscurece conforme la maduración, la similitud en el color con las hojas hace difícil su avistamiento lo cual dificulta saber cuándo el fruto está listo para ser cosechado. La pulpa del fruto es blanco-verdoso, blanco-crema, amarillo-pálido cuando el fruto es inmaduro y va oscureciendo conforme la maduración hasta café oscuro casi negro, dentro de la pulpa se encuentran semillas grandes entre 6 o 12, en algunas ocasiones el fruto carece de semillas de color amarillo oscuro (Janick & Paull, 2008; Pacheco, 1981; Urbina, 1912).

*Nombres comunes y nombres locales (menos comunes)*

Tras su domesticación en la zona Maya (Colunga-GarcíaMarín & Zizumbo-Villarreal, 2004) se reconocen variantes silvestres del fruto como *Diospyros konzattii* Standl., la cual se encuentra en peligro de extinción (Contreras & Lersten, 1984); *Diospyros palmeri* (chapote, manzanillo, zapote negro o zapotillo), cuyos frutos son comestibles y similares a los frutos de *D. digyna* (pericarpio verde con pulpa café oscuro y múltiples semillas) con una cosecha entre abril hasta octubre (Carranza-González, 2000); *Diospyros xolocotzii* (zapote prieto), de igual forma los frutos son comestibles y similares a los frutos de *D. digyna* pero su cultivo va entre diciembre y enero (Carranza-González, 2000).

*Diospyros digyna* es el nombre más aceptado en la actualidad y menos común *Diospyros nigra* (Janick & Paull, 2008; Pacheco, 1981), anterior y erróneamente llamado *Diospyros ebenaster* (Retz) (Cavalcante et al., 2008; Dressler, 1953; Janick & Paull, 2008; Morais et al., 2016; Morton, 1987; Urbina, 1912), también se le conoce como *Diospyros ebenum* (Pacheco, 1981), *Diospyros tlizapotl* (Urbina, 1912), *Diospyros obtusifolia* (Janick & Paull, 2008; Pacheco, 1981; Urbina, 1912), *Diospyros revoluta* cuyos frutos son similares venenosos (Janick & Paull, 2008; Morton, 1987), *Diospyros sapota* (Pacheco, 1981), *Diospyros membranacea* (Pacheco, 1981), *Diospyros laurifolia* (Pacheco, 1981), *Sapota nigra* (Pacheco, 1981).

Por otro lado, se le han asignado diferentes nombres dependiendo de su ubicación, el más conocido y por el cual se le asocia erróneamente a la familia de las sapotáceas es zapote negro que viene de *Tliltzapotl* (náhuatl) = *Tilli* (negro) + *Tzapotl* (zapote) (Peralta, 2019; Urbina, 1912) y que a su vez este viene de *Tzapotlatenan* (madre de

los zapotes) diosa del fruto para los náhuatles (Peralta, 2019). El nombre del fruto varía mucho dependiendo de la región en la cual se le encuentre, debido a que muchos provienen de las diferentes lenguas indígenas habladas en México (Tabla 1) y además su traducción en otros idiomas, *black sapote*, *chocolate pudding fruit*, *chocolate persimon* en inglés (de Grenade et al., 2016), *kaki noir*, *sapote noire*, *sapotie* en francés, *diospirosu nigura* en japones, *zapoté negro* en filipinas son algunos ejemplos (Lim, 2012).

### ***Características físicas de la fruta***

El zapote negro es muy diferente de otras frutas. El pericarpio del fruto es muy delgado y la pulpa puede ser  $\leq 80\%$  del total del fruto (Tabla 2). Durante la maduración, la firmeza del fruto disminuye hasta que su textura es suave como la de una jalea o un pudin. La firmeza se reduce  $\leq 90\%$  dentro de los 6 días posteriores a su cosecha (Arellano-Gómez et al., 2005). Una de las características más destacables del fruto es su color; el color del pericarpio de la fruta inmadura (dura) es verde trébol, pero a medida que madura, se vuelve verde bosque y puede llegar a tener manchas cafés. La pulpa es blanquecina cuando el fruto está inmaduro, y se torna café oscuro cuando madura. Los valores del color cuando el fruto está maduro se encuentran en el primer cuadrante del espacio de color (CIELab\*) (tonos rojos y amarillos) que debido a la baja luminiscencia ( $L^*$ ), se observa el color oscuro (Tabla 2).

**Tabla 1.** Nombres comunes y no comunes de *Diospyros digyna* en México y El Salvador.

Nombre	Idioma/dialecto	Ubicación	Referencia
Zapote negro	Español	Distintas regiones de México	Pacheco (1981); Urbina (1912)
Zapote prieto	Español	Chiapas, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Tabasco, Veracruz, Yucatán	Pacheco (1981)
Manzano verde	Español	El Salvador	EDIT (n.d.)
Manzano negro	Español	El Salvador	EDIT (n.d.)
Zapote de mico/ sapote de mico	Español	El Salvador	Yahia & Gutierrez-Orozco (2011)
Matazano de mico			Yahia & Gutierrez-Orozco (2011)
Munegue	Español	Hidalgo, San Luis Potosí	Pacheco (1981)
Cáscara de zapote prieto	Español		Urbina (1912)
Ebano	Español	Yucatán	Pacheco (1981); Yahia & Gutierrez-Orozco (2011)
Tlilzapote	Náhuatl		CONABIO (n.d.-a); Pérez & Casasola (2015); Urbina, (1912)
Tlilzápotl	Náhuatl	Zona central	CONABIO (n.d.-a); Pacheco (1981)
Totocuitlatzapotl	Náhuatl	Zona central	CONABIO (n.d.-b); Pacheco (1981)
Tsúpilul	Náhuatl		CONABIO (n.d.-a)
Tauch-ya	Maya	Yucatán	CONABIO (n.d.-b); Pacheco (1981)
Tauch	Maya	Yucatán	CONABIO (n.d.-a); Pacheco (1981)
Ca tuluk'	Tseltal		CONABIO (n.d.-b)
Bomuza	Otomi		CONABIO (n.d.-b)
Múnec	Huasteco		CONABIO (n.d.-b)
Sahual	Totonaco		CONABIO (n.d.-b)
Sawat	Totonaco		Pérez & Casasola (2015)
Munek'	Tenek	San Luis Potosí	Pérez & Casasola (2015)
Bom-rza	Otomí		CONABIO (n.d.-a)
Bioaahui	Zapoteco		CONABIO (n.d.-a)
Pi-llahui	Zapoteco		CONABIO (n.d.-a)
Biaqui	Zapoteco	Oaxaca	Pacheco (1981)
Hunchuikll	Mixe		CONABIO (n.d.-a)
Jünchúikll	Mixe		CONABIO (n.d.-a)
Ta-tohó	Chinanteco		CONABIO (n.d.-a)

**Tabla 2.** Algunas propiedades físicas y características de color de frutos de zapote negro (*D. digyna*) maduro.

Característica	Valor	Referencias
Peso g (sin dimensiones reportadas)	179.97±17.34	Corral-Aguayo et al. (2008)
% de pulpa	69 – 80	Corral-Aguayo et al. (2008); Gastélum-Reynoso et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2014)
% de pericarpio	25-27	Corral-Aguayo et al. (2008); Gastélum-Reynoso et al. (2008)
Firmeza (N) (6 días después de la cosecha)	3.8	Arellano-Gómez et al. (2005)
<b>Color del pericarpio</b>		
<i>L</i> *	41.2±1.4	García-Solís et al. (2009)
<i>a</i> *	4.5±1.4	
<i>b</i> *	6.2±1.8	
<i>Croma</i>	7.85±1.12	Corral-Aguayo et al. (2008)
<i>Hue</i> (°)	53.13±14.64	
<b>Color de la pulpa</b>		
<i>L</i> *	20 - 27	García-Solís et al. (2009); Moo-Huchin et al. (2014); Yahia et al. (2011)
<i>a</i> *	13.5 – 20	García-Solís et al. (2009); Yahia et al. (2011)
<i>b</i> *	1.01 – 4.9	(2011)
<i>Croma</i>	5.5 – 20.6	Corral-Aguayo et al. (2008); Yahia et al. (2011)
<i>Hue</i> (°)	5.5 – 20.6	Corral-Aguayo et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2014); Yahira (2011)

### *Características fisicoquímicas de la pulpa*

Una gran cantidad de compuestos nutricionales han sido identificados en la pulpa de los frutos de zapote negro. Dentro de su composición química se encuentran, carbohidratos, fibra, ácidos grasos, minerales, vitaminas, proteína entre otros. Las características fisicoquímicas y composición nutricional de los frutos de zapote negro (*D. digyna*) se enlistan en la Tabla 3.

**Contenido de humedad.** Moo-Huchin et al. (2014), mencionan que la parte comestible de este fruto es aproximadamente del 80% y el resto corresponde al pericarpio y

las semillas. El componente mayoritario en el fruto como en la mayoría de las frutas es el agua (Tabla 3). Su contenido de humedad es alrededor de 80 % b.h., y es similar a otros frutos de la misma familia, pero diferente especie como: 84.4% para *D. blancoi* (Hung et al., 2016) y 85% para *D. kaki* (FDA, 2019).

**Actividad de agua.** La alta actividad de agua del fruto (0.98-0.99) lo hace propenso al ataque de algunos microorganismos o de reacciones de oxidación química.

**pH y acidez.** A diferencia de muchas frutas, los frutos de *D. digyna* tienen valores de pH elevados (6.5-6.7), baja acidez titulable (0.008-0.91 %) y son ricos en vitamina C (Janick & Paull, 2008). A pesar de su baja acidez, contiene ácido cítrico, málico, tartárico y fumárico (Ramírez-Briones et al., 2019).

**Carbohidratos.** La cantidad de carbohidratos (fibra, glucosa, fructosa y sacarosa) debe variar entre 12 y 15%; las variaciones dependen de muchos factores como madurez, época y lugar de cosecha, condiciones de almacenamiento, entre otros (Arellano-Gómez et al., 2005; Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006). y se menciona que es un fruto bajo en azúcares (Janick & Paull, 2008). Los principales carbohidratos complejos son la fibra (soluble e insoluble) (Moo-Huchin et al., 2014); algunos azúcares simples no estructurales como glucosa (en una proporción más alta), fructosa y sacarosa (Ramírez-Briones et al., 2019) (Tabla 3). No se han reportado contenidos de pectina, pero se ha informado de su presencia, lo que es útil en la preparación de productos basados en zapote negro (Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006; Lazcano-Hernández et al., 2011). También se ha informado proteína (1g/100g de pulpa) (Ramírez-Briones et al., 2019) y (1.2 g/100g de pulpa) (Underhill, 2003) en la pulpa.

**Tabla 3.** Características fisicoquímicas y de composición de *D. digyna*.

<b>Característica</b>	<b>Valor</b>	<b>Referencia</b>
Contenido de humedad (% b.h.)	71-87	Corral-Aguayo et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2014); Morton (1987); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006); Underhill (2003); Yahia et al. (2011); Gastélum-Reynoso et al. (2008)
Contenido de humedad del fruto sobremaduro (% b.h.)	78.89±0.07	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Energía (kcal/100g)	66-68	Underhill (2003); Yahia et al. (2011)
pH	6.5-6.7	Gastélum-Reynoso et al. (2008); Ramírez-Briones et al. (2019); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
pH del fruto sobremaduro	6.7 ±0.11	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Actividad de agua ( $a_w$ )	0.980-0.994	Gastélum-Reynoso et al. (2008); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
$a_w$ del fruto sobremaduro	0.989±0.007	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Carbohidratos (% b.h.)	12-15	Corral-Aguayo et al. (2008); Underhill (2003); Morton (1987)
Carbohidratos estructurales	no	Ramírez-Briones et al. (2019)
Glucosa (mmol/kg b.s.)	800	
Fructosa (mmol/kg b.s.)	200	
Sacarosa (mmol/kg b.s.)	30	
Almidón (mmol/kg b.s.)	45	
Sólidos solubles totales (°Bx)	15-25	Gastélum-Reynoso et al. (2008); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006); Corral-Aguayo et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2014); Ramírez-Briones et al. (2019)
Sólidos solubles totales (°Bx) (extracto acuoso)	17.9±1	García-Solís et al. (2009)
Sólidos solubles totales del fruto sobremaduro (°Bx)	17.4±0.05	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Azúcares totales (g/100g b.h.)	15	Yahia et al. (2011)
Azúcares reductores (g/100g b.h.)	17.88±3.23	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Azúcares reductores del fruto sobremaduro (g/100g b.h.)	18.26±1.46	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Proteína (g/100g b.h.)	0.6-1.0	Corral-Aguayo et al. (2008); Morton (1987); Underhill (2003); Yahia et al. et al. (2011); Ramírez-Briones et al. (2019)
Fibra dietética total (g/100g b.h.)	1.6	Underhill (2003)
Fibra dietética total (g/100g b.s.)	16-21	Yahia et al., 2011 Moo-Huchin et al. (2014)
Fibra soluble (g/100g b.h.)	10.17±0.98	Moo-Huchin et al. (2014)
Fibra insoluble (g/100g b.h.)	10.27±0.88	Moo-Huchin et al. (2014)
Acidez titulable (% b.h. de ácido cítrico)	0.008-0.91	Gastélum-Reynoso et al. (2008); Moo-Huchin et al., (2014); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)



Acidez titulable del fruto sobremaduro (% b.h. de ácido cítrico)	0.0585±0.0003	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Grasa (% b.h.)	0.01-1.2	Morton (1987); Yahia et al. et al. (2011); Underhill (2003)
Cenizas totales (% b.h.)	0.37 –1.53	Morton (1987); Underhill (2003); Yahia et al. (2011); Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Cenizas totales del fruto sobremaduro (% b.h.)	1.24±0.15	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)

---

**Minerales.** Los minerales son esenciales para múltiples funciones metabólicas y desarrollo del material vegetal (Perović et al., 2020). La Tabla 4 muestra el contenido en minerales evaluado por algunos autores. El consumo de zapote negro es una fuente importante de calcio (Carranza-González, 2000), en comparación con otros frutos tropicales como el plátano, coco, kiwi o papaya, el zapote negro es el que mayor contenido de calcio posee (Yahia et al. et al., 2011), seguido por el fósforo y el hierro.

**Vitaminas.** La vitamina que se encuentra en mayor cantidad es el ácido ascórbico, el cual puede llegar hasta 191 mg/100 g (Tabla 4), sin embargo, la Vit C disminuye con la maduración (Arellano-Gómez et al., 2005; Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006) pero junto con los compuestos fenólicos contribuye de manera importante con en la capacidad antioxidante (Corral-Aguayo et al., 2008). Es también una fuente importante de Vit E ( $\gamma$ ,  $\alpha$  and  $\delta$  tocoferol) (Corral-Aguayo et al., 2008; Ya et al., 2011), el cual, en un estudio comparando con aguacate, guayaba, nopal, mango, fresa, papaya y tuna, el zapote negro tuvo el valor más alto de Vit E; por el contrario, mostraron que el contenido de Vit C era el más bajo de todas las frutas (Corral-Aguayo et al., 2008), no obstante, esto puede depender del estado de madurez, época, día, lugar de cosecha entre otros. De igual forma se ha reportado la presencia de Vit A, tiamina, riboflavina y niacina (Tabla 4).

**Tabla 4.** Minerales y vitaminas de fruto de *D. digyna*.

Característica	Valor	Referencia
<b>Minerales</b>		
Calcio (mg/100g)	18-47	Underhill (2003); Morton (1987); Yahia et al. (2011)
Fósforo (mg/100g)	23-26	Morton (1987); Underhill (2003); Yahia et al. (2011)
Hierro (mg/100g)	0.36-1.6	Morton (1987); Underhill (2003); Yahia et al., (2011)
<b>Vitaminas</b>		
Ácido ascórbico (mg/100g b.h.) (6 días después de la cosecha)	69.8	Arellano-Gómez et al. (2005) Underhil (2003);
Ácido ascórbico (mg/100g b.h.)	21-192	Yahia et al. (2011); Morton (1987); Corral-Aguayo et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2014); Chávez-Reyes & Arana- Errasquin (2006)
Ácido ascórbico, fruto sobre maduro (mg/100g b.h.)	120.06±0.01	Chávez-Reyes & Arana-Errasquin (2006)
Vit E ( $\gamma$ and $\alpha$ tocoferol) mg/100 g b.h.	2.064	Corral-Aguayo et al. (2008)
Vit E ( $\delta$ -Tocoferol mg/100g b.h.)	0.716±0.063	Gutiérrez-Orozco et al. (2011)
Vit A ( $\mu$ g /100 g b.h.)	0.040-0.049	Moo-Huchin et al. (2017); Underhill (2003)
Tiamina (mg/100g b.h.)	0.02-0.03	Underhill (2003); Yahia et al. (2011)
Riboflavina (mg/100g b.h.)	0.03-0.04	Morton (1987); Underhill (2003); Yahia et al. (2011)
Niacina (mg/100g b.h.)	0.02-0.2	Morton (1987); Yahia et al. (2011); Underhill (2003)

b.h., base húmeda

### ***Cambios fisicoquímicos y bioquímicos durante la maduración***

**Cambios físicos y cosecha.** Se han estudiado los cambios asociados a la maduración del fruto. En general el fruto tarda cuatro meses en alcanzar su madures en árbol; dependiendo de su ubicación geográfica existen diferentes periodos de cosecha, marzo a enero en algunos estados de México (Janick & Paull, 2008), específicamente agosto a enero en Querétaro, octubre a enero en Puebla, marzo a junio en Veracruz (Pacheco, 1981) y diciembre a febrero en Florida (Janick & Paull, 2008), sin embargo, debido a la similitud en el color exterior del fruto con las hojas es difícil saber cuándo ya alcanzo su maduración optima, además una vez

maduros los frutos pueden llegar a caerse y debido a la violenta caída el fruto se maltrata por lo que su calidad disminuye. Por lo que tiende a cosecharse cuando aún esta verde y se le permite madurar, lo cual le puede llevar hasta 10 días cuando esta verde y firme y entre 2-6 cuando esta firme pero el color verde es más oscuro, similar al verde oliva (Janick & Paull, 2008); la maduración se puede retrasar aplicando ligeras dosis de radiación (0.15 kGy) hasta el 4 día lo cual puede ayudar al almacenamiento y traslado de los frutos (Miller et al., 1997).

**Cambios fisicoquímicos durante la cosecha.** Es durante estos días que el fruto sufre varios cambios físicos, fitoquímicos y bioquímicos. El cambio más notable es la firmeza, se reduce hasta casi un 90% del valor inicial hasta 3.8 N después de 6 días almacenado a 25°C (Arellano-Gómez et al., 2005), el peso del fruto disminuye al igual que la humedad (Arellano-Gómez et al., 2005; Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006). Otro cambio notable, es el color, ya que tiende a oscurecerse tanto en el exterior como en el interior, debido a diferentes razones como los cambios en la cantidad de carotenoides, disminución de la clorofila disminuye debido a la oxidación en los cloroplastos, incremento en la actividad de la enzima polifenol oxidasa, disminución del ácido ascórbico, que si bien genera su característico color café oscuro puede representar una pérdida del valor nutricional (Arellano-Gómez et al., 2005); lo cual va de la mano con la disminución de los compuestos fenólicos de 28.94 a 4.36 mg / 100 g de pulpa (Arellano-Gómez et al., 2005). Además, la concentración de taninos disminuye; los taninos dan al fruto una ligera sensación astringente.

Algunos de los cambios fisicoquímicos evaluados son el pH el cual aumenta ligeramente y a su vez ocurre una disminución en la acidez titulable (Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006), después de 6 días de almacenamiento puede disminuir hasta 62%

(concentración final 69.8 mg de ac ascórbico / 100 g de fruto) (Arellano-Gómez et al., 2005). Al mismo tiempo ocurre una acumulación de los azúcares debido a la hidrólisis del almidón y algunos otros polisacáridos presentes, aumentando tanto el valor de los sólidos solubles totales y los azúcares reductores (Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006); junto con la disminución de los taninos los cuales le imparten sabor astringente (Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006). En frutos de kaki de diferentes cultivos se observó un cambio en el contenido de carbohidratos mediante una disminución de sacarosa y un aumento en la glucosa y fructosa (Santos et al., 2018).

**Frecuencia respiratoria.** El zapote negro produce una alta concentración de CO<sub>2</sub> y etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) durante el proceso de maduración. Se trata de un fruto climatérico. Se ha observado una producción de 367.3 mL CO<sub>2</sub> / kg h tras 6 días de almacenamiento y una producción de 480.7 µL C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> / kg h a los 5 días de almacenamiento. Esta producción de gases respirables hace que sea altamente perecedero (Arellano-Gómez et al., 2005); por lo tanto, debe almacenarse en condiciones de refrigeración para aumentar su vida útil y ralentizar su maduración. Además, la generación de etileno mostro favorecer el ablandamiento y regular la actividad de las enzimas pectinmetilesterasa, polifenol oxidasa; otras enzimas presentes en el fruto se encuentran en la Tabla 5 (Arellano-Gómez et al., 2005).

**Tabla 5.** Enzimas presentes en frutos de zapote negro (*Diospyros digyna*) al sexto día de almacenamiento

Aminociclopropanocarboxilato oxidasa (µL C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> / kg1 h)	15.42
Pectinmetilesterasa (mg metoxilo / 100 g)	452.3
Fenilalanina aminoliasa (pkat / 100 g)	63.41
Polifenol oxidasa (A <sub>490nm</sub> / min)	12.2

---

Arellano-Gómez et al. (2005)

**Pigmentos.** Se han identificado la presencia de múltiples moléculas las cuales además de su función biológica pueden o tienen la capacidad de actuar como pigmentos y darle coloración al fruto. El fruto presenta carotenoides, antocianinas y compuestos del grupo fenólico (Tabla 6). Reportes indican que la decocción del fruto puede teñir el agua de color rojo oscuro o café casi negro (Urbina, 1912). Otros autores reportan tonalidades rojizas oscuras ( $Hue = 10.25^\circ$  y  $Croma = 16.83$ ) (Yahia et al., 2011), o tonos rojos-azulados ( $Hue = 337.98^\circ$ ) (Moo-Huchin et al., 2014) en la pulpa. Los cambios en el color se dan debido a la maduración del fruto, se ha reportado que *D. kaki* cv. 'Heishi', disminuye su cantidad de clorofilas tipo a y b, y aumenta la cantidad carotenoides ( $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno), esta variedad del fruto se caracteriza por tener tonos negros ( $Hue = 155^\circ$  y  $Croma = 2.75$ ) (Qi et al., 2019). El zapote negro puede alcanzar un contenido total de carotenoides de 7.99 mg/100g (Moo-Huchin et al., 2017). Los pigmentos son carotenoides ( $\beta$ -caroteno y licopeno), xantofilas (luteína y  $\beta$ -criptoxantina) y una pequeña cantidad de clorofila (0.258 mg/100 g) (Arellano-Gómez et al., 2005). Las antocianinas y múltiples compuestos fenólicos derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico (Yahia et al., 2011).

**Tabla 6.** Pigmentos y compuestos fenólicos en la pulpa de zapote negro (*D. digyna*).

<b>Características</b>	<b>Valor</b>	<b>Referencias</b>
Clorofilas totales (mg/100 g b.h.) (6 días después de la cosecha)	0.258	Arellano-Gómez et al. (2005)
Carotenoides totales (mg/100g b.h.) (6 días después de la cosecha)	7.29	Arellano-Gómez et al. (2005)
Carotenoides totales (mg/100g b.h.)	0.19-7.9	Corral-Aguayo et al. (2008); Gutiérrez-Orozco et al. (2011); Morton (1987); Moo-Huchin et al., 2017); Ramírez-Briones et al. (2019)
Carotenos		
β-caroteno (μg/100 g b.h.)	50-290	Corral-Aguayo et al. (2008); Moo-Huchin et al. (2017)
Licopeno (μg/100 g b.h.)	2.1±0.1	Moo-Huchin et al. (2017)
Xantofilas		
Luteína (mg /100 g b.h.)	0.034-0.29	Yahia et al. (2011); Moo-Huchin et al. (2017)
β -criptoxantina (μg /100 g b.h.)	9.3±0.9	Moo-Huchin et al. (2017)
Antocianinas totales (mg TA/100g b.h.)	14.19±0.01	Moo-Huchin et al. (2017)
Fenoles solubles totales (mg/100g b.h.)	158.48±1.02	Arellano-Gómez et al. (2005)
Fenoles totales (mg/100g b.h.)	470-500	Can-Cauich et al. (2017); Ramírez-Briones et al. (2019)
Fenoles totales (mg/100g b.h.) (sobremaduro)	247.81±16.5	Gutiérrez-Orozco et al. (2011)
Fenoles totales (mg/100g) of overripe fruit	247.8	Corral-Aguayo et al. (2008)
Compuestos fenólicos identificados		
Ácido cinámico (mg/100 g b.h.) *	9.84 ± 3.33	Gutiérrez-Orozco et al. (2011)
Ácido transcinámico (mg/100 g b.h.))	2.07 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico (mg/100 g b.h.)	24.10 ± 5.77	Yahira et al. (2011)
Ácido Cafeico (mg/100 g b.h.) *	25.23 ± 3.27	Yahira et al. (2011)
Ácido sinápico (mg/100 g b.h.) *	110.71 ± 26.90	Yahira et al. (2011)
	1.74 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Ácido ferúlico (mg/100 g b.h.) *	82.00 ± 6.59	Yahira et al. (2011)
	8.13 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Ácido <i>o</i> -cumárico (mg/100 g b.h.) *	8.64 ± 1.03	Yahira et al. (2011)
Miricetina (mg/100 g b.h.) *	85.01 ± 8.78	Yahira et al. (2011)
	5.07 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Ácido Elágico (mg/100 g b.h.))	17.15 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Ácido protocatéquico (mg/100 g b.h.) *	4.75 ± 1.10	Yahira et al. (2011)
Flavonoides (mg quercitina/100g b.h.)	376.04±72.29	Moo-Huchin et al. (2017)
	1250 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
	900	Ramírez-Briones et al. (2019)
Catequina (mg/100 g b.s.) *	79.941 ± 9.89	Yahira et al. (2011)
Epicatequina (mg/100 g b.s.)	18.53 ± 1.11	
	77.07 <sup>a</sup>	Can-Cauich et al. (2017)
Quercetina (mg/100 g b.s.)	15.62	Can-Cauich et al. (2017)
Taninos (% b.s.)	0.35±0.02	Chávez-Reyes & Arana-Erasquin (2006)

\* Identificado por HPLC; <sup>a</sup> Compuesto presente en la cáscara de zapote negro.

### *Características bioactivas*

Se han identificado compuestos biológicos que muestran actividad antioxidante. La gran cantidad de compuestos fenólicos muestra una actividad antioxidante similar a la de guayaba y la papaya (García-Solís et al., 2009); sin embargo, la variabilidad en la actividad antioxidante podría deberse a la época de cultivo (Ramírez-Briones et al., 2019), la etapa de maduración (Arellano-Gómez et al., 2005; Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006; Corral-Aguayo et al., 2008), o el tipo de extracto ya que la actividad antioxidante aumenta cuando se realiza un extracto hidrofílico en comparación con uno lipofílico (Corral-Aguayo et al., 2008; Yahia et al., 2011).

El tipo de disolvente utilizado para la extracción también puede afectar a los valores de actividad antioxidante; ésta aumenta cuando la extracción se lleva a cabo con un disolvente hidrófilo en comparación con uno lipofílico (Can-Cauich et al., 2017). Can-Cauich et al. (2017) reportado 4.44 mmol equivalentes de Trolox/100 g b.s. y 450 mg equivalentes de BHT/100 g b.h. (utilizando el método ABTS). Los mismos autores informaron de 2.74 mmol equivalentes de Trolox/100 g b.h. y 580 mg equivalentes de BHT/100 g b.h. (utilizando el método DPPH); 8591  $\mu$ mol de TE/100 g b.h. (utilizando el método ORAC), 2600  $\mu$ mol TE/100 g b.h. (utilizando el método FRAP), 883  $\mu$ mol de TE/100 g b.h. (utilizando el método DPPH), 600  $\mu$ mol de TE/100 g b.h. (utilizando el método TEAC) (Corral-Aguayo et al., 2008); y  $501.5 \pm 26.4$  mg de TE/100g b.h. (utilizando el método FRAP),  $302.7 \pm 15.9$  mg/100g b.h. (utilizando el método DPPH) (Yahia et al., 2011). Por otro lado, se ha reportado que los siguientes compuestos tienen actividad antioxidante: 3-epilupeol (N° de registro CAS 4439-99-0),  $\beta$ -sitosterol (N° de registro CAS 83-46-5), 7-metiljuglona (N° de registro CAS 14787-

38-3), isodiospirina (N° de registro CAS. 20175-84-2), xilospirina (N° de registro CAS 29482-55-1), escopoletina (N° de registro CAS 92-61-5), (Mallavadhani et al., 1998), 1-O-bisgalloilhidroxiacetona, epóxido de cilindrina, (Dinda et al., 2002), 2-hidroxi-2-fenilacetónitrilo (N° de registro CAS 613- 88-7), eritro-siringilglicerol 4-O-β-D-glucósido, gingerdiona (N° de registro CAS 61871-71-4), 11-metilgerberinol (N° de registro CAS 173559-76-7), acetato de cinamilo (N° de registro CAS 103-54-8) (Ramírez-Briones et al., 2019). y ursina 12,18-dien-3-ol38 (Ramírez-Briones et al., 2019). Otros trabajos se han enfocado en la determinación de compuestos presentes en las hojas (cilindrina y 9,11-epoxi cilindrina de las hojas (Dinda et al., 2006) y en los tallos lupeol, betulina, ácido gálico, y 1-O-bis-galloil hidroxiacetona (Dinda et al., 2006).

### ***Compuestos aromáticos***

Pino et al. (2014) reportaron 32 compuestos volátiles, entre ellos 9 terpenos, 11 cetonas, 5 aldehídos, 4 alcoholes, 2 ésteres y una parafina. Los compuestos mayoritarios son (Z)-β-ocimeno, (E)-cinamaldehído y limoneno. Otros compuestos y notas aromáticas se enlistan en la Tabla 7 (Pino et al., 2014).

**Tabla 7.** Compuestos volátiles y notas aromáticas del zapote negro.

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración ± desviación estándar (µg/g)</b>	<b>Notas aromáticas</b>
3-Metilbutanal	0.05±0.001	Afrutado, malteado
Limoneno	0.78±0.05	Verde pungente, cítrico
(Z)-β-Ocimeno	1.22±0.08	Cálido herbáceo
Linalool	0.04±0.002	Dulce, floral
(E)-Cinamaldehído	1.16±0.07	Cálido-picante-balsámico
Metil (E)-cinamato	0.34±0.03	Fresa, miel
β-Cariofileno	0.06±0.007	Fresco, afrutado

Adaptado de Pino et al. (2014)



### *Consumo de zapote negro*

Los frutos maduros pueden fermentarse rápidamente. Los frutos deben ser consumidos justo cuando alcancen las características óptimas para el consumo (blandos como una pasta y dulces) (Peralta, 2019), o refrigerados para mantener las características sensoriales por un tiempo (Janick & Paull, 2008). La pulpa del fruto suele ser consumida sola cuando el fruto está maduro y suave ya que el fruto inmaduro es amargo y astringente (Janick & Paull, 2008) y es necesario hervirlo para poder ser consumido como vegetal en algunos guisados (Arellano-Gómez et al., 2005; Janick & Paull, 2008; Peralta, 2019). El sabor del fruto maduro puede ser ligeramente insípido, aunque algunos especímenes tienen sabor dulce (Ledin, 1957). Su sabor mejora cuando se le combina con jugo de limón, naranja, piña o vino (Arellano-Gómez et al., 2005; Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006; Janick & Paull, 2008; Lazcano-Hernández et al., 2011; Ledin, 1957; Pacheco, 1981; Peralta, 2019; Yahia & Gutierrez-Orozco, 2011) y es consumido como postre en los estados de Veracruz, Campeche, Chiapas o Yucatán en México (Chávez-Reyes & Arana-Errasquin, 2006). También se prepara mezclando la pulpa con una pequeña cantidad de ron o brandy y azúcar. El puré también se come frío, con o sin crema batida (Lim, 2012; Yahia & Gutierrez-Orozco, 2011). De manera similar se le puede mezclar con vino, canela y azúcar para realizar un postre (Lim, 2012; Morton, 1987; Yahia & Gutierrez-Orozco, 2011). En Filipinas se consume mezclando con leche (como *cheesecake*), tortas de trigo, *mousse* y salsas dulces utilizadas como coberturas (Arellano-Gómez et al., 2005; Lim, 2012; Morton, 1987; Yahia & Gutierrez-Orozco, 2011). Al fermentar la pulpa se puede obtener un licor similar al brandy el cual es consumido en Centro América (Lim, 2012).

Lazcano-Hernández et al. (2011) mencionan que, para la elaboración de mermelada o conservas, es necesaria la adición de jugo de frutas como la naranja para mejorar las propiedades sensoriales. El proceso consiste en la cocción de la pulpa del fruto con jugo de frutas y azúcar; a través de la cocción, se rompen las membranas celulares para extraer la pectina natural del fruto. Cuando se está hirviendo la fruta, se le adicionan el ácido cítrico, azúcar y pectina; de esta manera, se obtiene una conserva con un contenido de humedad del 32%, 65°Bx (67% de carbohidratos) y un pH igual a 3.5. Algunos estudios se han enfocado en la reducción de la actividad de agua del producto la cual se obtuvo cuando contenía 40% zapote, 10% jugo de naranja, 30% glucosa y 20% sacarosa, teniendo una actividad de agua del 0.873 (Chávez-Reyes & Arana-Erasquin, 2006). De forma similar, se ha utilizado la tecnología de barreras para la conservación del pure de zapote, el pure control se mantuvo estable la mitad del tiempo que los tratamientos con  $a_w$  ajustada, pH ajustado y el uso de conservadores a 4°C, logrando inhibir el de bacterias y levaduras, pero no el de hongos (Gastélum-Reynoso et al., 2008).

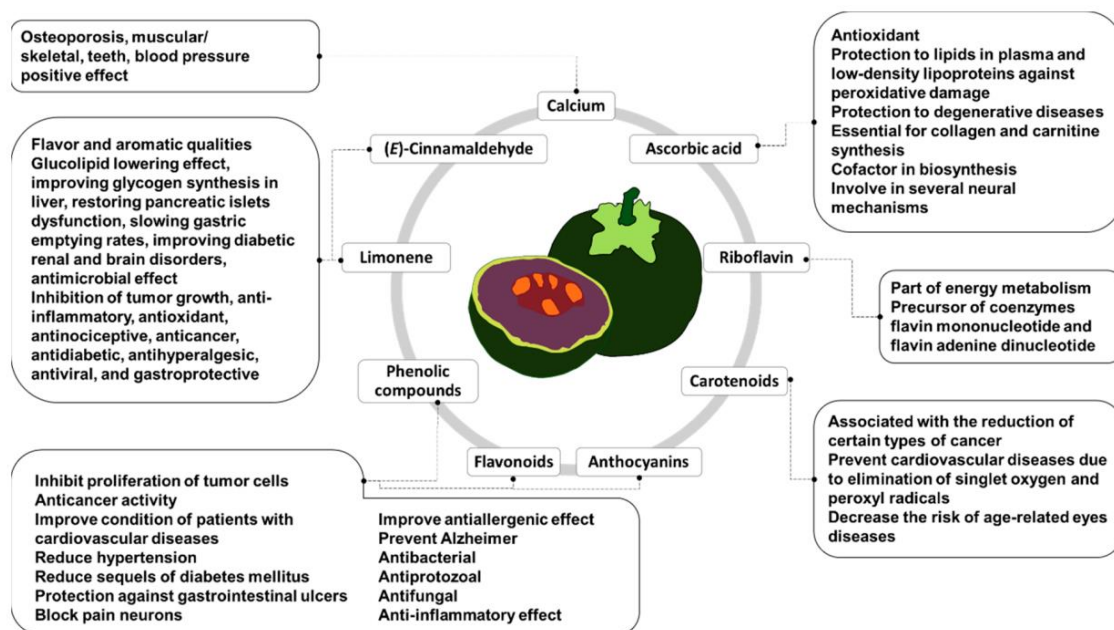
### ***Características medicinales***

Hasta la fecha se han utilizado las diferentes partes de la planta (fruto, raíces, corteza, tallos, hojas) para curar diferentes padecimientos.

La cultura Totonaca (pueblo indígena de Veracruz, Puebla y Hidalgo, México) utilizaba (y quizás todavía utiliza) la infusión de hojas y tallos como laxante suave y anti-leucorrea (Alfaro, 1984; Dinda et al., 2006). Beber la infusión de hojas hervidas durante un largo período de tiempo puede ayudar a reducir el nivel de colesterol (Pérez & Casasola,

2015). Los pacientes con síntomas de diabetes han mencionado que el consumo de la infusión de hojas de sapote negro les ha ayudado a reducir su malestar, lo que puede deberse a la presencia de proantocianidinas que disminuyen la cantidad de glucosa en la sangre (Dièye et al., 2008). La decocción de la corteza y la piel del fruto consumido por la noche puede ayudar a aliviar los síntomas nerviosos (Pérez & Casasola, 2015) o reducir la fiebre (Devalaraja et al., 2011). Las hojas, en forma de cataplasma, han demostrado ser útiles en el tratamiento de enfermedades de la piel como la lepra, la dermatofitosis o el eccema marginado (infección fúngica de la piel) y la erupción o urticaria de la piel (Alonso-Castro et al., 2011; Janick & Paull, 2008; Morton, 1987). Urbina (1912) menciona que la pulpa del fruto inmaduro puede actuar contra estas mismas afecciones e incluso aliviar el malestar de la sarna e impétigo; para su uso, es necesario preparar una pasta con frutos tiernos, aplicar la pasta en la zona afectada y mantenerla allí durante un tiempo (Pérez & Casasola, 2015). En forma de compresa, las hojas y la corteza del tronco sirven como agente hemostático (antihemorrágico) (Dinda et al., 2006). Se ha demostrado que el fruto maduro tiene actividad hipoglucemiante debido a la presencia de alcaloides y cardenolidos (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). También se ha informado que la aplicación de proantocianidina de la piel puede reducir los niveles de glucosa del suero sanguíneo y de la hemoglobina glicosilada y los niveles de triacilglicéridos en pacientes con hiperlipidemia (Devalaraja et al., 2011). Otras propiedades farmacológicas relacionadas con los compuestos presentes en el fruto se muestran en la Figura 1.

## Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante



**Figura 1.** Propiedades farmacológicas de los principales compuestos encontrados en la pulpa de zapote negro.

### *Características anticancerígenas*

El extracto concentrado etanólico de las raíces de zapote negro ha mostrado cierta citotoxicidad (expresada como GI o la concentración que causa una inhibición del 50% del crecimiento celular) contra células de cáncer de mama (GI<sub>50</sub>=14 µL/mL), pulmón (GI<sub>50</sub>=13 µL/mL) y del sistema nervioso central (GI<sub>50</sub>=30 µL/mL) (Calderón et al., 2006); sin embargo, los autores consideraron solo extractos activos aquellos que mostraron citotoxicidad por debajo de 10 µL/mL en GI<sub>50</sub> (Can-Cauich et al., 2017; Corral-Aguayo et al., 2008; Moo-Huchin et al., 2014; Yahia et al., 2011). Además, el fruto del zapote negro también ha mostrado una gran variedad de compuestos con actividad antioxidante y potencial para propiedades anticancerígenas.

### ***Características antimicrobianas***

Muy pocos estudios han explorado el potencial antimicrobiano de las diferentes partes del zapote negro. La presencia de lupeol, betulina, ácido gálico y 1-O-bis-galloyl-hidroxiacetona en los tallos y cilindrina, 9,11-epoxicilindrina y diospirodina y diospirodina mono acetato en las hojas ha mostrado la inhibición de bacterias Grampositivas y negativas, específicamente contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Dinda et al., 2006). Por el contrario, los extractos etanolicos de la corteza mostraron actividad antifúngica contra *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger* (Surapuram et al., 2014).

### ***Otros usos***

El zapote negro se ha utilizado para remover colorantes con el carbón activado obtenido a partir de las semillas del fruto, usando  $H_3PO_4$  para activarlo químicamente y calcinado a  $400^\circ C$  (Herrera-González et al., 2019). Peláez-Cid et al. (2020) usaron este carbón activado para la remoción de colorantes y lograron remover metales pesados (Cr, Cu, Fe, Pb). La madera oscura de zapote negro puede ser utilizada para la elaboración de muebles, palos de golf, figuras de madera, entre otros (Ibarra-Manríquez et al., 1997; Lim, 2012).

### **Observaciones finales**

*D. digyna* es una fuente valiosa de diferentes compuestos bioactivos, especialmente carotenoides, compuestos fenólicos, minerales, vitaminas, etc. Debido a la presencia de estos compuestos y estudios que demuestran su actividad antimicrobiana, alta actividad antioxidante y uso como ingredientes para alimentos con un sabor agradable, *D. digyna* tiene

el potencial de ser utilizado. Los alimentos enriquecidos con esta fruta tendrían características que potencialmente mejoran la salud de las personas y características sensorialmente deseables. Además, su uso como ingrediente podría contribuir a la reducción del desperdicio de alimentos y promover la producción y el conocimiento de la fruta. Se deben realizar trabajos futuros para asegurar el valor de la fruta en la industria alimentaria y el uso potencial de todos los compuestos presentes en la fruta. Sobre la base de lo revisado, se proponen nuevas perspectivas: (1) el desarrollo de nuevos productos, como la incorporación de la fruta en productos de panadería y lácteos, entre otros, para aumentar el contenido de fibra y otros compuestos, (2) el estudio de los beneficios para la salud humana, incluyendo el tracto gastrointestinal y diferentes órganos, después del consumo de la fruta tanto cruda como como ingrediente en alimentos y la elucidación de los mecanismos, (3) el rendimiento y la optimización de la extracción de compuestos bioactivos tanto en el laboratorio como a nivel industrial, y (4) la obtención de productos por liofilización, secado por pulverización o secado por convección y la obtención de pigmentos para alimentos y alimentos listos para comer y aprovechando algunas partes del árbol para ayudar a aliviar algunos malestares.

## **Referencias**

- Alfaro, M. A. M. (1984). Medicinal plants used in a totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, México. *Journal of Ethnopharmacology*, *11*(2), 203–221. doi: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90039-4](https://doi.org/10.1016/0378-8741(84)90039-4)
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., & Garcia-Carranca, A. (2011). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*, *133*(3), 945–972. doi: 10.1016/j.jep.2010.11.055

- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, *99*(3), 325–348. doi: 10.1016/j.jep.2005.04.019
- Arellano-Gómez, L. A., Saucedo-Veloz, C., & Arévalo-Galarza, M. L. (2005). Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna* jacq.). *Agrociencia*, *39*(2), 173–181.
- Arvizu-Barrón, E., Mayett Moreno, Y., Martínez Flores, J. L., Olivares Benítez, E., & Flores Miranda, L. (2015). Análisis de producción y comercialización hortícola del estado de Puebla: Un enfoque de cadena de valor. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *6*(4), 779–792.
- Calderón, Á. I., Vázquez, Y., Solís, P. N., Caballero-George, C., Zacchino, S., Gimenez, A., ... Gupta, M. P. (2006). Screening of Latin American Plants for Cytotoxic Activity. *Pharmaceutical Biology*, *44*(2), 130–140. doi: 10.1080/13880200600592285
- Can-Cauich, C. A., Sauri-Duch, E., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L., González-Aguilar, G. A., Cuevas-Glory, L. F., ... Moo-Huchin, V. M. (2017). Tropical fruit peel powders as functional ingredients: Evaluation of their bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, *37*, 501–506. doi: 10.1016/j.jff.2017.08.028
- Carranza-González, E. (2000). Ebenaceae. *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes, Fascículo 83*, 1–9.
- Castañeda-Vildózola, A., Nava-Díaz, C., Franco-Mora, O., Lomeli-Flores, R., & Pena, J. E. (2011). *Diospyros digyna* (Ebenaceae): A New Host Record for *Bephratelloides ablusus* (Hymenoptera: Eurytomidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, *94*(4), 1071–1072.
- Cavalcante, Í. H. L., Oliveira, I. V. M., Beckmann-Cavalcante, M. Z., & Martins, A. B. G. (2008). Substrate for Seedling Emergence of White Sapote in Brazil. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, *2*(2), 47–50.
- Chávez-Reyes, Y., & Arana-Errasquin, R. (2006). Elaboración de un producto de humedad intermedia a partir de Zapote Negro (*Diospyros digyna*) y Naranja. *IV Congreso Internacional, XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica*. Mexico.
- Colunga-GarcíaMarín, P., & Zizumbo-Villarreal, D. (2004). Domestication of Plants in Maya Lowlands. *Economic Botany*, *58*(sp1), S101–S110. doi: 10.1663/0013-0001(2004)58[S101:DOPIML]2.0.CO;2
- Conabio. (n.d.-a). *Diospyros ebenaster* Retz. Retrieved July 31, 2020, from Encilovida website: [enciclovida.mx/especies/163962-diospyros-nigra](http://enciclovida.mx/especies/163962-diospyros-nigra)
- Conabio. (n.d.-b). Zapote negro—*Diospyros nigra*. Retrieved July 31, 2020, from Encilovida website: [enciclovida.mx/especies/163962-diospyros-nigra](http://enciclovida.mx/especies/163962-diospyros-nigra)

- Contreras, L. S., & Lersten, N. R. (1984). Extrafloral nectaries in Ebenaceae: anatomy, morphology, and distribution. *American Journal of Botany*, 71(6), 865–872. doi: 10.1002/j.1537-2197.1984.tb14151.x
- Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-Lopez, A., & González-Aguilar, G. (2008). Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10498–10504. doi: 10.1021/jf801983r
- de Grenade, R., Nabhan, G. P., & Cariño Olvera, M. (2016). Oases of the Baja California peninsula as sacred spaces of agrobiodiversity persistence. *Agriculture and Human Values*, 33(2), 455–474. doi: 10.1007/s10460-015-9621-z
- de Legarreta, A. P. (2019). *Cultura gastronómica en la Mesoamérica prehispánica*. Siglo XXI Editores México.
- Devalaraja, S., Jain, S., & Yadav, H. (2011). Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food Research International*, 44(7), 1856–1865. doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.008
- Dewanjee, S., Maiti, A., Sahu, R., Dua, T. K., & Mandal, V. (2011). Effective Control of Type 2 Diabetes through Antioxidant Defense by Edible Fruits of *Diospyros peregrina*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1–7. doi: 10.1093/ecam/nep080
- Dièye, A. M., Sarr, A., Diop, S. N., Ndiaye, M., Sy, G. Y., Diarra, M., ... Faye, B. (2008). Medicinal plants and the treatment of diabetes in Senegal: Survey with patients. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(2), 211–216. doi: 10.1111/j.1472-8206.2007.00563.x
- Dinda, B., Das, S. K., Bhattacharya, A., De, U. C., & Harigaya, Y. (2002). Chemical Constituents of *Diospyros nigra*. *Journal of the Indian Chemical Society*, 79(6), 553–554. doi: 10.1002/chin.200307143
- Dinda, B., Bhattacharya, A., De, U. C., Arima, S., Takayanagi, H., & Harigaya, Y. (2006). Antimicrobial C-Glucoside from Aerial Parts of *Diospyros nigra*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(5), 679–681. doi: 10.1248/cpb.54.679
- Dowell, R. V., & Steinberg, B. (1979). Development and Survival of Immature *Citrus Blackfly* (Homoptera: Aleyrodidae) on Twenty-three Plant Species<sup>1</sup>. *Annals of the Entomological Society of America*, 72(6), 721–724. doi: 10.1093/aesa/72.6.721
- Dressler, R. L. (1953). The Pre-Colombian Cultivated plants of Mexico. *Botanical Museum Leaflets, Harvard University*, 16(6), 115–172.
- Duangjai, S., Samuel, R., Munzinger, J., Forest, F., Wallnöfer, B., Barfuss, M. H. J., ... Chase, M. W. (2009). A multi-locus plastid phylogenetic analysis of the pantropical genus *Diospyros* (Ebenaceae), with an emphasis on the radiation and biogeographic origins of the New Caledonian endemic species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(3), 602–620. doi: 10.1016/j.ympev.2009.04.021



- EDIT. (n.d.). *Diospyros digyna*. Retrieved from EDIT Plataform for Cybertaxonomy website: [http://portal.cybertaxonomy.org/salvador/cdm\\_dataportal/taxon/f6efb9a8-1909-4a5f-bbdd-a64a9e20d210](http://portal.cybertaxonomy.org/salvador/cdm_dataportal/taxon/f6efb9a8-1909-4a5f-bbdd-a64a9e20d210)
- Escamilla Pérez, B. E., & Moreno Casasola. (2015). *Plantas medicinales de La Matamba y El Piñoral, municipio de Jamapa, Veracruz* (1st ed.). Xalapa, Veracruz.
- García Díaz, R., Cuevas Sánchez, J. A., Segura Ledesma, S., & Basurto Peña, F. (2015). Análisis panbiogeográfico de *Diospyros* spp. (Ebenaceae) en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(1), 187–200.
- García-Solís, P., Yahia, E. M., Morales-Tlalpan, V., & Díaz-Muñoz, M. (2009). Screening of antiproliferative effect of aqueous extracts of plant foods consumed in México on the breast cancer cell line MCF-7. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup6), 32–46. doi: 10.1080/09637480802312922
- Gastélum-Reynoso, G. G., Ávila-Sosa, R., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2008). Desarrollo de un producto de zapote negro (*Diospyros digyna*) de alta humedad. *Temas Selectos de ingeniería de Alimentos*, 2(2), 68–78.
- Hallman, G. J., & Knight, R. J. (1993). *Hypocala andremona* (Lepidoptera: Noctuidae) Development on Eight Species of *Diospyros* (Ebenaceae). *The Florida Entomologist*, 76(3), 461–465. doi: 10.2307/3495646
- Herrera-González, A. M., Caldera-Villalobos, M., & Peláez-Cid, A.-A. (2019). Adsorption of textile dyes using an activated carbon and crosslinked polyvinyl phosphonic acid composite. *Journal of Environmental Management*, 234, 237–244. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.01.012
- Hervert-Hernández, D., García, O. P., Rosado, J. L., & Goñi, I. (2011). The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. *Food Research International*, 44(5), 1182–1189. doi: 10.1016/j.foodres.2010.09.021
- Hung, S.-F., Roan, S.-F., Chang, T.-L., King, H.-B., & Chen, I.-Z. (2016). Analysis of aroma compounds and nutrient contents of mabolo (*Diospyros blancoi* A. DC.), an ethnobotanical fruit of Austronesian Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1), 83–89. doi: 10.1016/j.jfda.2015.08.004
- Ibarra-Manríquez, G., Ricker, M., Angeles, G., Colín, S. S., & Colín, M. A. S. (1997). Useful plants of the Los Tuxtlas rain forest (Veracruz, Mexico): Considerations of their market potential. *Economic Botany*, 51(4), 362–376. doi: 10.1007/BF02861046
- Janick, J., & Paull, R. E. (Eds.). (2008). *The encyclopedia of fruit & nuts*. Wallingford, UK ; Cambridge, MA: CABI North American Office.
- Lazcano-Hernández, M., Dávila-Márquez, R. M., Navarro-Cruz, A. R., Maciel-Rodriguez, M., & Acevez-Cruz, I. (2011). Desarrollo de un producto a base de Zapote Negro (*Diospyros digyna*) jugo de Naranja (*Citrus aurantium*). *Revista Verde de*

- Agroecología e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)*, 6(5), 40–45.
- Ledin, R. B. (1957). Tropical and subtropical fruits in Florida (other than citrus). *Economic Botany*, 11(4), 349–376. doi: 10.1007/BF02903817
- Lim, T. K. (2012). *Diospyros digyna*. In T. K. Lim, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (pp. 425–427). Dordrecht: Springer Netherlands. doi: 10.1007/978-94-007-1764-0\_57
- Mallavadhani, U. V., Panda, A. K., & Rao, Y. R. (1998). Review article number 134 pharmacology and chemotaxonomy of diospyros. *Phytochemistry*, 49(4), 901–951. doi: 10.1016/S0031-9422(97)01020-0
- Miller, W., Sharp, J., & Baldwin, E. (1997). Quality of irradiated and nonirradiated Black Zapote (*Diospyros digyna* Jacq.) after storage and ripening. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, 110, 215–218.
- Moo-Huchin, V. M., Estrada-Mota, I., Estrada-León, R., Cuevas-Glory, L., Ortiz-Vázquez, E., Vargas, M. de L. V. y, ... Sauri-Duch, E. (2014). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 152, 508–515. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.013
- Moo-Huchin, V. M., González-Aguilar, G. A., Moo-Huchin, M., Ortiz-Vazquez, E., Cuevas-Glory, L., Sauri-Duch, E., & Betancur-Ancona, D. (2017). Carotenoid Composition and Antioxidant Activity of Extracts from Tropical Fruits. *Chiang Mai Journal of Science*, 44(2), 605–616.
- Morais-Oliveira, I. V., Cavalcante, Í. H. L., & Martins, A. B. G. (2006). influência do substrato na emergência de plântulas de sapota preta. *Revista Caatinga*, 19(4), 383–386.
- Morton, J. (1987). Black Sapote *Diospyros digyna* Jacq. In *Fruits of warm climates* (pp. 416–418). Miami, Florida.
- Osorio-Beristain, O., Valiente-Banuet, A., Dávila, P., & Medina, R. (2017). Tipos de vegetación y diversidad  $\beta$  en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Botanical Sciences*, (59), 35. doi: 10.17129/botsci.1504
- Pacheco, L. (1981). Ebenaceae. In A. Gómez-Pompa (Ed.), *Flora de Veracruz* (pp. 1–22). Veracruz, Mexico: INIREB.
- Peláez-Cid, A. A., Romero-Hernández, V., Herrera-González, A. M., Bautista-Hernández, A., & Coreño-Alonso, O. (2020). Synthesis of activated carbons from black sapote seeds, characterization and application in the elimination of heavy metals and textile dyes. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 28(2), 613–623. doi: 10.1016/j.cjche.2019.04.021
- Perović, J., Tumbas Šaponjac, V., Kojić, J., Krulj, J., Moreno, D. A., García-Viguera, C., ... Ilić, N. (2020). Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a food ingredient – nutritional

- composition, bioactivity, safety, and health claims: A Review. *Food Chemistry*, 127676. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127676
- Pino, J. A., Ortiz-Vazquez, E., Sauri-Duch, E., & Cuevas-Glory, L. (2014). Characterization of aroma-active compounds in black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Acta Alimentaria*, 43(4), 547–552. doi: 10.1556/AAlim.2013.0004
- Qi, Y., Liu, X., Zhang, Q., Wu, H., Yan, D., Liu, Y., ... Yang, Y. (2019). Carotenoid accumulation and gene expression in fruit skins of three differently colored persimmon cultivars during fruit growth and ripening. *Scientia Horticulturae*, 248, 282–290. doi: 10.1016/j.scienta.2018.12.042
- Ramírez-Briones, E., Rodríguez Macías, R., Casarrubias Castillo, K., del Río, R. E., Martínez-Gallardo, N., Tiessen, A., ... Zañudo-Hernández, J. (2019). Fruits of wild and semi-domesticated *Diospyros* tree species have contrasting phenological, metabolic, and antioxidant activity profiles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(13), 6020–6031. doi: 10.1002/jsfa.9878
- Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B. S., & Khan, H. (2015). In vivo sedative and muscle relaxants activity of *Diospyros lotus* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(4), 277–280. doi: 10.1016/S2221-1691(15)30345-2
- Ricker, M., Valencia-Avalos, S., Hernández, H. M., Gómez-Hinostrosa, C., Martínez-Salas, E. M., Alvarado-Cárdenas, L. O., ... Mendoza, P. E. (2016). Tree and tree-like species of Mexico: Apocynaceae, Cactaceae, Ebenaceae, Fagaceae, and Sapotaceae. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(4), 1189–1202. doi: 10.1016/j.rmb.2016.07.018
- Santos, A. D. da C., Fonseca, F. A., Dutra, L. M., Santos, M. de F. C., Menezes, L. R. A., Campos, F. R., ... Barison, A. (2018). 1H HR-MAS NMR-based metabolomics study of different persimmon cultivars (*Diospyros kaki*) during fruit development. *Food Chemistry*, 239, 511–519. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.06.133
- SIAP. (2020). Retrieved July 30, 2020, from Anuario Estadístico de la Producción Agrícola website: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Surapuram, V., Setzer, W. N., McFeeters, R. L., & McFeeters, H. (2014). Antifungal Activity of Plant Extracts against *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *Natural Product Communications*, 9(11), 1934578X1400901. doi: 10.1177/1934578X1400901118
- The Editors of Encyclopedia Britannica. (2019). *Diospyros* | Description, Major Species, & Facts. Retrieved July 30, 2020, from Encyclopedia Britannica website: <https://www.britannica.com/plant/Diospyros>
- Underhill, S. J. R. (2003). Fruits of tropical climates | Commercial and Dietary Importance. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 2780–2785). Elsevier. doi: 10.1016/B0-12-227055-X/00534-4
- Urbina, M. (1901). Los zapotes de Hernández. Cornell University.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 559–902. doi: 10.1016/j.rmb.2016.06.017

- Yahia, E. M., Gutierrez-Orozco, F., & Leon, C. A. (2011). Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit of black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Food Research International*, *44*(7), 2210–2216. doi: 10.1016/j.foodres.2010.11.025
- Yahia, E. M., De Jesus Ornelas-Paz, J., & Gonzalez-Aguilar, G. A. (2011). Nutritional and health-promoting properties of tropical and subtropical fruits. In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 21–78). Elsevier. doi: 10.1533/9780857093622.21
- Yahia, E. M., & Gutierrez-Orozco, F. (2011). Black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 244–251e). Elsevier. doi: 10.1533/9780857092762.244

## Capítulo VI

### Obtención y aplicación de pigmentos color caramelo de la pulpa de Zapote negro (*Diospyros digyna*)

Jiménez-González, Oscar, González-Pérez, Julio, Mejía-Garibay, Beatriz, López-Malo, Aurelio, y Guerrero-Beltrán, José Ángel

#### Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar un pigmento a partir de la pulpa zapote negro (*Diospyros digyna*) utilizando bacterias lácticas o levaduras para la fermentación y ser agregado como pigmento en formulaciones de gomitas. La pulpa de zapote negro fue fermentada con *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Saccharomyces cerevisiae*. Los pigmentos se obtuvieron por extracción líquido-líquido con una solución de etanol (80%): pure (1:1 v/v) y se microencapsularon mediante secado por aspersion a 150°C (temperatura de entrada) utilizando una mezcla de maltodextrina y goma de mezquite (1:1 w/w) al 5%. Se evaluaron las características físicas (rendimiento, contenido de humedad, actividad de agua ( $a_w$ ), color y tamaño de partícula), la capacidad antioxidante (AC), los compuestos fenólicos totales (TPC) y su estabilidad a diferentes pH y temperaturas. Los pigmentos se agregaron al 1, 3 y 5% en formulaciones de gomitas y se evaluaron en cuanto al color y otras características sensoriales. Los resultados mostraron que el proceso de fermentación aumentó los valores de AC y TPC, especialmente con *L. rhamnosus*. La AC se redujo durante el secado, pero el color café claro se mantuvo estable ( $L^* = 61.87-67.18$ ,  $a^* = -0.09-4.6$  y  $b^* = 27.97-2.26$ ). Los polvos obtenidos después de la fermentación con *L. casei* y *L. rhamnosus* tuvieron un rendimiento alrededor del 10% menos que el control y la muestra fermentada con *S. cerevisiae*. El contenido de humedad y la  $a_w$  fueron inferiores al 9.04% y

0.190, respectivamente, en todos los polvos. El tamaño de partícula de los polvos estuvo en el rango de 0.75 a 15.56  $\mu\text{m}$ . La prueba de estabilidad mostró que el pH cambió significativamente los parámetros de color del pigmento ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) ( $p < 0.05$ ). La temperatura, por otro lado, cambió el color de los polvos, mostrando un color verde-marrón pálido. Finalmente, aumentando la concentración de pigmento en las formulaciones de gomitas, el color cambió de café claro a casi negro; sin embargo, esto no influyó en la aceptabilidad por parte de los consumidores.

## **Introducción**

El color en los alimentos es uno de los factores de apariencia más importantes. El color de los alimentos puede ayudar a identificar sabores y es también un indicador de la calidad que puede afectar el comportamiento del consumidor incrementando su aceptabilidad, preferencia o deseo sobre los productos (Garber et al., 2016; Sukkwai et al., 2018). Por otro lado, la adición de colorantes o pigmentos ayuda en la estandarización del color. Incrementando la intensidad del color, o restaurando el color que se pierde debido al pensamiento. También, el color es añadido para satisfacer las expectativas del consumidor o para colorear alimentos incoloros como bebidas, refrescos, productos de panadería o confitería (Lehto et al., 2017; Martins et al., 2016; Scotter, 2011). En particular, la industria de la confitería usa agentes colorantes debido a que los ingredientes principales carecen de color. Por ejemplo, en gomita se utilizan jarabes de glucosa, almidón, gelatina, agua y en ocasiones agar, pectina y/o alginatos (Burey et al., 2009; Dewi et al., 2018), solo por mencionar algunos materiales texturizantes; todos estos ingredientes son incoloros. A pesar de que el color es añadido solo por apariencia, es un paso crucial en la producción de

alimentos. Mas del 8/% de dulces utiliza colorantes sintéticos en su formulación (Dewi et al., 2018).

Los colorantes alimenticios están divididos en artificiales/sintéticos, idénticos al natural y naturales (Scotter, 2011). Uno de los colorantes más usados en alimentos y bebidas es el color caramelo (CAS No. 8028-89-5), el cual comprende colores rojos a marrones o café oscuro (líquido o polvo). La producción de color caramelo se da mediante el calentamiento controlado de carbohidratos hasta que se caramelizan (Krahl et al., 2016; Ramesh & Muthuraman, 2018; Stich, 2016). Este tipo de colorantes tienen un aroma a azúcar quemada y un ligero sabor amargo (Vollmuth, 2018), dependiendo de la intensidad del calentamiento. La molecular responsable del color en este colorante es la 4-metilimidazola junto con otros compuestos químicos producidos durante el calentamiento. Diferentes estudios han indicado que un consumo alto de 4-metilimidazola no representa un riesgo a la salud humana en términos de sus características como potencial cancerígeno, porque solo una pequeña fracción de los compuestos presentes en el colorante es absorbida (Vollmuth, 2018). Otros estudios han relacionado a la ingesta de color caramelo con alta presión sanguínea e hipertensión (Ramesh & Muthuraman, 2018). No obstante, la preocupación del consumidor acerca del uso de colorantes artificiales o sintéticos y el riesgo que conlleva a su salud ha aumentado, así como el efecto de los colorantes sintéticos tras su consumo a largo plazo. Por lo que, la industria alimentaria busca formas para reemplazar estos colorantes sintéticos con pigmentos nuevos y naturales, los cuales, además, posean beneficios a la salud. Una opción puede ser la combinación de pigmentos naturales como son las betalaínas rojas o antocianinas, el color amarillo del  $\beta$ -caroteno, y los pigmentos azules de la espirulina

(Brimmer, 2017). Pero la combinación exacta puede representar un problema en la obtención del color exacto; además, muchos de estos pigmentos presentan inestabilidad a condiciones calor y pH.

El zapote negro (*Diospyros digyna*) es una fruta endémica de México (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a). Su consumo es como fruta de estación o agregada como ingrediente en postres. La composición de la fruta incluye muchas vitaminas, minerales y compuestos bioactivos (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a; Yahia, De Jesus Ornelas-Paz, et al., 2011; Yahia, Gutierrez-Orozco, et al., 2011). Algunos de estos compuestos bioactivos son pigmentos con propiedades nutraceuticas contra numerosas enfermedades (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a; Mannino et al., 2022; Yahia, Gutierrez-Orozco, et al., 2011). En la pulpa del zapote negro podemos encontrar carotenoides ( $\beta$ -caroteno y licopeno), xantofilas (luteína y  $\beta$ -criptoxantina), clorofilas, antocianinas y otros compuestos fenólicos, los cuales le dan su color café-negro oscuro tan característico (por el cual recibe su nombre) cuando está maduro (Arellano-Gómez et al., 2005; Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a; Yahia, Gutierrez-Orozco, et al., 2011). La adición de estos pigmentos en matrices alimenticias podría producir alimentos altamente coloreados con propiedades nutraceuticas.

Por lo que, el objetivo de este estudio fue la obtención de pigmentos de la pulpa de zapote negro utilizando la fermentación para incrementar las características antioxidantes, evaluar el efecto de la fermentación en el color y encapsular estos pigmentos mediante secado por aspersión para ser añadidos en la formulación de gomitas.



## **Materiales y métodos**

### ***Material vegetal***

Los frutos de zapote negro fueron cosechados de árboles crecidos en la ciudad de Puebla, México. Los frutos inmaduros (textura dura) fueron recolectados y almacenados (individualmente) a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y humedad relativa del 80% hasta que adquirieron características de consumo (pericarpio verde oscuro con manchas cafés y textura suave de la pulpa al tacto). Los frutos fueron lavados con agua, secados, colocados en bolsas de polipropileno, sellados y almacenados a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su uso.

### ***Preparación de la pulpa de zapote negro***

Antes de su uso, los frutos fueron descongelados a temperatura ambiente ( $22^\circ\text{C}$ ). La piel y las semillas fueron removidos manualmente. La pulpa sin semillas ( $17.11 \pm 1.32^\circ\text{Bx}$ ) fue molida con un procesador de alimentos NutriBullet (NutriBullet, NB-101B, China) hasta obtener un pure de textura suave.

### ***Fermentación y extracción de pigmentos***

*Microorganismos.* Las cepas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Saccharomyces cerevisiae* fueron obtenidos de la colección del laboratorio de Microbiología de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) (Cholula, Puebla, México). Los lactobacilos fueron sembrados previamente en 100 mL de caldo estéril Man, Rogosa & Sharp (MRS) (MERCK, Alemania). La levadura fue sembrada en 100 mL de caldo Dextrosa Sabouraud (BD, Difco, USA). Se dejaron crecer a los microorganismos a  $37^\circ\text{C}$  en un baño

con agitación hasta alcanzar la fase estacionaria. Entonces, los microorganismos fueron preservados en viales de 1 mL con glicerol (80% v/v) en una relación 1:1 a -20°C.

*Fermentación.* Un vial de cada microorganismo fue descongelado y re-cultivado en su respectivo caldo por 3 días a 37°C para obtener la biomasa. El caldo rico en microorganismos fue centrifugado (Sorvall ST 8R centrifuge, ThermoFisher Scientific, Germany) en tubos para centrifuga estériles a 11470×g (5°C) por 20 min. La biomasa fue añadida a 100 g de pure a una relación 1:100 (p/p), mezclada vigorosamente y fermentado durante 4 días a 37°C. Se realizó una homogeneización con un vortex a máxima velocidad cada 12 horas, para asegurar que los microorganismos crecen en todo el pure.

*Extracción de los pigmentos y otros compuestos bioactivos.* Se realizó una extracción líquido- líquido a una relación 1:1 con etanol (80% v/v) y el pure fermentado por 10 min en un baño con agitación a temperatura ambiente. La mezcla fue centrifugada a 11470×g (5°C) por 15 min. Posteriormente, se realizaron dos extracciones más a las mismas condiciones ya descritas. Se combinaron todos los sobrenadantes y concentraron en un rotavapor (R-300, Büchi, Flawil, Suiza) a 40°C y 70 mmHg hasta obtener un cuarto del volumen inicial. El volumen final se completó a 100 mL utilizando agua destilada. El contenido de sólidos totales en el extracto fue alrededor de  $4.26 \pm 0.63\%$ .

### ***Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales***

#### ***DPPH***

El método DPPH se realizó en un espectrofotómetro de placa (Multiskan SkyHigh, Thermo Scientific, Singapore), siguiendo la metodología propuesta por Jiménez-González &

Guerrero-Beltrán (2022) con algunas modificaciones. Brevemente, la prueba consistió en el mezclado de una alícuota (20  $\mu$ L) de cada muestra con 200  $\mu$ L de una solución etanólica de DPPH a 0.1 mM. La mezcla fue homogenizada usando la función de agitación del espectrofotómetro Multiskan Sky Microplate. La mezcla se mantuvo en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. La absorbancia ( $A$ ) fue medida a 517 nm y usada para calcular el porcentaje de inhibición ( $I$  %) de la capacidad antioxidante (ecuación 1). Para cuantificar la capacidad antioxidante se utilizó una curva de calibración  $I$  (%) =  $0.902x$  ( $0 - 100$  mg/L) +  $0.763$ ,  $R^2 = 0.991$  con Trolox (ecuación 2). Los resultados de la capacidad antioxidante con el ensayo de DPPH (DPPHAC) fue expresado como mg equivalentes de Trolox (TE)/g de muestra en base seca (ecuación 2). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

$$I (\%) = \frac{A_{DPPH} - A_s}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

$$DPPHAC \left( \frac{mg TE}{g} \right) = \left( \frac{I(\%) - b}{m} \right) \times DF \quad (2)$$

donde  $A_{DPPH}$  es la absorbancia del blanco (radical libre sin muestra o estándares),  $A_s$  es la absorbancia de las soluciones después de 30 min de reacción (para cada muestra se preparó un blanco y también fue medida), y  $DF$  el factor de dilución.

### ***ABTS***

El método ABTS fue realizado de acuerdo con lo propuesto por Gómez-García et al. (2022) con algunas modificaciones. El radical ABTS• fue formado mezclando 7 mM ABTS (5 mL) y 2.45 mM de persulfato de potasio (5 mL); la mezcla se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente por un mínimo de 16 horas. Se realizó una dilución posterior hasta alcanzar una absorbancia de  $0.700 \pm 0.020$  a 754 nm. Posteriormente, se agregaron 15  $\mu$ L de la muestra y fueron mezclados con 200  $\mu$ L de la solución ABTS•, se mantuvo a temperatura ambiente, en la oscuridad, por 6 minutos antes de leer su absorbancia a 754 nm, usando un lector de microplaca. Se realizó una curva estándar con Trolox a diferentes concentraciones:  $I_{ABTS} (\%) = 0.899x(0 - 100 \text{ mg/L}) - 0.688$ , ( $R^2 = 0.973$ ). los resultados de la capacidad antioxidante utilizando el método de ABTS (*ABTSAC*) fue expresado como mg equivalentes de Trolox (TE)/g de muestra en base seca, usando las ecuaciones (3) y (4). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

$$I_{ABTS} (\%) = \frac{A_{ABTS} - A_A}{A_{ABTS}} \times 100 \quad (3)$$

$$ABTSAC \left( \frac{\text{mg TE}}{\text{g}} \right) = \left( \frac{I_{ABTS} (\%) - b}{m} \right) \times DF \quad (4)$$

donde  $A_{ABTS}$  es la absorbancia del blanco (radical libre sin muestra o estándar),  $A_A$  es la absorbancia de cada solución, y  $DF$  es el factor de dilución.

### ***FRAP***

El método de FRAP en microplaca fue realizado usando la metodología propuesta por Bolanos de la Torre et al. (2015). El reactivo de FRAP se preparó mezclando buffer de acetato (300 mM, pH 3.6), una solución de 2,4,5-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) (0.01 mM en HCl 40 mM a 50°C) y una solución de cloruro férrico hexahidratado (0.02 M) en una relación 10:1:1 e incubada a 37°C por 10 min. Posteriormente, 20 µL de cada muestra fue añadida a 280 µL de la solución de FRAP y mezclada perfectamente. La placa de 96 posos se mantuvo 30 min en oscuridad a 37°C; a continuación, se leyó la absorbancia a 593 nm usando un lector de microplaca. Todas las muestras y los estándares para la curva estándar con sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ):  $y = 0.0044x (0 - 170 \text{ mg/L}) - 0.0152$ ,  $R^2 = 0.944$ ) fueron medidos por triplicado. Los resultados de la capacidad antioxidante con FRAP ( $AA_{FRAP}$ ) fueron calculados y reportados como mg de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /g de muestra en base seca usando la ecuación (5).

$$AA_{FRAP} \left( \frac{\text{mg FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{\text{g}} \right) = \left( \frac{A_{FRAP} + 0.0152}{0.0044} \right) \times DF \quad (5)$$

donde  $A_{FRAP}$  es la absorbancia de cada solución (muestra/estándar) y  $DF$  es el factor de dilución.

### *Compuestos fenólicos totales*

El contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) fue evaluado mediante el método de Folin-Ciocalteu, utilizando una microplaca de 96 pocillos descrito previamente por Ahmad et al. (2017) con algunas modificaciones. En la microplaca se colocaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra, seguido por 100  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu (0.1 M). La muestra fue mezclada y después de 3 min, se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 M). La absorbancia fue medida a 765 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis de microplaca. Se prepararon soluciones de ácido gálico para preparar una curva de calibración:  $y = 0.0045x$  (0 – 200 mg/L) + 0.452, ( $R^2 = 0.971$ ). Los resultados fueron expresados como mg Equivalentes de Ácido gálico (GAE)/g de muestra y calculados usando la ecuación (6).

$$GAE \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \left( \frac{\text{Abs}-b}{m} \right) \times DF \quad (6)$$

donde *Abs* es la absorbancia de cada solución (muestra/estándar) y *DF* el factor de dilución.

### *Encapsulación mediante secado por aspersión*

La encapsulación de los pigmentos fue hecha homogenizando el extracto concentrado con el agente encapsulante (maltodextrina y goma de mezquite en una relación 1:1 p/p) a una concentración del 5% (p/v). se alimentaron 100 mL de cada mezcla a un secador por aspersión (Mini spray-dryer B-290, Büchi, Suiza) a  $150 \pm 3$  y  $95 \pm 3^\circ\text{C}$  para la temperatura

de entrada y de salida, respectivamente. Las condiciones de secado fueron: alimentación 10 rpm ( $10 \pm 0.8$  mL/min) para el flujo de alimentación, 100% en la aspiración, 1.05 bar en la presión de aire, y una nariz de aspersión presurizada de 0.7 mm. El polvo obtenido fue recolectado y almacenado en frasco sellados cubiertos con aluminio y almacenados en un desecador hasta su análisis o hasta ser utilizados como pigmento/colorante en un alimento.

### ***Propiedades físicas de los pigmentos encapsulados***

#### ***Rendimiento***

El rendimiento fue calculado con la ecuación (7).

$$Yield(\%) = \frac{\text{powder obtained}}{\text{solids fed to dryer}} \times 100 \quad (7)$$

#### ***Humedad y actividad de agua***

El contenido de humedad fue determinado por gravimetría. Se pesaron alrededor de 2 g de muestra y fueron colocados en charolas de aluminio. Se realizó el secado en un horno a 105°C por 24 h. Para la medición de la  $a_w$ , se utilizó un medido de la actividad de agua (4TEV, Aqualab, USA).

#### ***Color***

Los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) fueron determinados con un colorímetro portable (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japón) en modo transmitancia con un iluminante estándar  $D_{65}$ , y un observador de 2°. Los valores *Hue* y *Croma* fueron calculados utilizando la ecuación

(8) y (9), respectivamente. Los valores de *Hue* fueron corregidos según lo propuesto por Jiménez-González & Guerrero-Beltrán (2021b).

$$Hue = \tan^{-1} \left( \frac{a^*}{b^*} \right) \quad (8)$$

$$Chroma = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (9)$$

### ***Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales***

La capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales fueron medidos siguiendo la metodología descrita previamente. Para la determinación, se pesaron 0.02 g de cada polvo, disolvieron en 20 mL de agua ultrapura (Milli-Q, Merck), y agitada vigorosamente con un vortex a máxima velocidad por 30 min.

### ***Tamaño de partícula***

El tamaño de partícula fue medido con un Analizador de Partícula de Difracción Laser (Bluewave, Microtrac, USA).

### ***Estabilidad del color a diferentes valores de pH y temperatura***

La estabilidad de los pigmentos fue medida mediante la disolución de 0.03 g de polvo en 5 mL de buffer McIlvaine a diferentes valores de pH (2, 3, 4, 5, 6 y 7). Cada solución fue calentada en forma de rampa desde temperatura ambiente hasta 120°C; una vez que la



solución alcanzó la temperatura más alta, la solución fue mantenida durante 20 min; posteriormente la temperatura fue disminuida gradualmente hasta 50°C. finalmente cada una de las fue puesta en un baño de hielo para detener el efecto de la temperatura. La estabilidad de los pigmentos fue evaluada espectrofotométricamente siguiendo el procedimiento propuesto por APHA et al. (1992). Brevemente, se midió todo el espectro visible (400 – 800 nm) en modo transmitancia e intervalos de 1 nm usando un lector de microplaca, usando agua como blanco. Usando 30 diferentes longitudes de onda, se calcularon los valores X, Y y Z usando la ecuación (10).

$$X, Y, \text{ or } Z = \sum_{\lambda} T\%(\lambda) \times F \quad (10)$$

donde  $T\%(\lambda)$  es el valor de la transmitancia a una longitud de onda exacta,  $F$  es el factor que corresponde a cada coordenada:  $X = 0.03269$ ,  $Y = 0.03333$  y  $Z = 0.03938$ . Las coordenadas X, Y, y Z fueron transformadas a valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , utilizando las ecuaciones (11), (12), y (13), respectivamente.

$$L^* = 116 * \left(\frac{Y}{Y_n}\right) - 16 \quad (11)$$

$$a^* = 500 \left[ \left(\frac{X}{X_n}\right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_n}\right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (12)$$

$$b^* = 200 \left[ \left( \frac{Y}{Y_n} \right)^{\frac{1}{3}} - \left( \frac{Z}{Z_n} \right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (13)$$

donde  $X_n$ ,  $Y_n$  y  $Z_n$  son 98.041, 100.000 y 118.103, respectivamente para un Iluminante C, un observador  $2^\circ$  y  $X/X_n$ ,  $Y/Y_n$  y  $Z/Z_n > 0.01$ .

### ***Aplicación de los pigmentos***

#### ***Preparación de las gomitas***

La formulación para las gomitas consistió en glucosa (120 g), agua para hidratar la gretetina (150 mL), azúcar refinada (550 g), benzoato de sodio (1 g), almidón (3 g), y agua (200 mL). Tres diferentes porcentajes del pigmento fueron usados para cada polvo (1, 3, 5%). El procedimiento para la elaboración de las gomitas consistió en i) hidratación de la gelatina, ii) mezclar el agua, el benzoato de sodio y el almidón, iii) se añadió la glucosa y el azúcar a la mezcla anterior hasta una completa disolución, iv) se calentó hasta alcanzar  $115^\circ\text{C}$ , v) se redujo la temperatura, vi) se añadió la gelatina hidratada, el ácido cítrico, y el pigmento de zapote negro previamente disuelto, vii) se mezcló suavemente. Finalmente, la mezcla líquida fue vertida en los moldes y se esperó al menos 48 h antes de desmoldar las gomitas. Las muestras se almacenaron a  $4^\circ\text{C}$  en bolsas metalizadas de polietileno para protegerlas de la luz.

#### ***Determinación del color en las gomitas***

Los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *Hue*, *Croma*) de las gomitas fueron determinados con un colorímetro como se describió previamente.

### *Evaluación sensorial*

Se utilizó un diseño de comparación por pares incompleto y balanceado (IBPCD) para la determinación el tipo de pigmento y la intensidad del color (basado en los porcentajes de color añadidos a las gomitas). Este tipo de análisis ayuda a evaluar la diferencia de un numero grande de muestras para evitar la fatiga de los jueces (Gacula & Singh, 1984). El IBPCD fue usado para comparar cual comita era la preferida por cada juez en cada par de forma individual. Se utilizó el modelo Rank Scheffé (1952) de 7 puntos (3 = prefiero fuertemente la muestra de la izquierda que la de la derecha, 2 = prefiero moderadamente la muestra de la izquierda que la de la derecha, 1 = prefiero levemente la muestra de la izquierda que la de la derecha, 0 = no hay preferencia; y -3, -2, -1 indican lo mismo que los números positivos, pero cambiando el orden “la derecha que la de la izquierda”). Se analizaron 78 combinaciones por 30 jueces diferentes, a cada uno se le dieron diferentes combinaciones. Cada muestra fue codificada con un numero de 3 dígitos y servidas al azar. Los jueces consistieron en gente no entrenada de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP), consistió entre hombres y mujeres en edades entre 20 y 60 años. A cada juez se le informó verbalmente en qué consistía la prueba y si estaban dispuestos a realizarla. Únicamente los jueces que fueron su consentimiento se les permitió participar. Además, se les informó que todos los productos eran seguros para su consumo, aunque la prueba fuese únicamente visual, además, se les mencionó que podían abandonar la prueba en cualquier momento sin ninguna explicación. Todos los datos obtenidos acerca de la información de los participantes no serán compartidas sin el consentimiento de los participantes. A cada juez se le sirvió un par de muestras y se le preguntó “¿qué muestra prefería más?”. Además, se preguntó: “¿relacionas la muestra con

un producto saludable?”, “¿considerarías reemplazar el colorante caramelo con pigmentos naturales?”. La primera pregunta fue contestada usando una escala de 9 puntos: 1 representa “para nada saludable” y 9 representa “muy saludable”. Para la segunda pregunta los jueces contestaron únicamente si o no.

### *Análisis estadístico*

El promedio para los resultados de las pruebas de antioxidantes y las propiedades físicas fue evaluado usando el software Statistix 8.1 (Statistix, Analytical Software, USA). El efecto de cada tratamiento fue analizado por la prueba de ANOVA. La diferencia entre medias entre las muestras fue comparada usando la prueba de Tukey a un  $\alpha = 0.05$ . El análisis sensorial fue analizado usando el Modelo Lineal General con el software Minitab 16 (Minitab Inc. USA). Las gráficas fueron hechas con el software KyPlot 6.0 (Kyenslab Inc.).

## **Resultados y discusión**

### *Características físicas de los microencapsulados*

La Tabla 1 muestra las características físicas de los pigmentos microencapsulados de pulpa de zapote negro. El rendimiento estuvo en un rango de 72.87 – 86.55%. se observó que la fermentación con bacterias ácido-lácticas generaban menores rendimientos en comparación con el control (sin fermentación) y con la fermentación por levaduras ( $p < 0.05$ ). Diferentes factores pueden influir en el rendimiento mediante secado por aspersión. Específicamente, en la producción de polvo de jugos de frutas, la cantidad y el tipo de azúcares y otros

compuestos como los ácidos orgánicos (Bhandari et al., 1993), pueden reducir el rendimiento de los polvos, lo cual también se debe al bajo peso molecular y la baja temperatura de transición vítrea (Tg) (Zhang et al., 2018). La baja Tg de estos compuestos puede aumentar la pegajosidad; por lo cual, el polvo puede adherirse a las paredes del secador (Zhang et al., 2018). Tanto *L. casei* y *L. rhamnosus* son especies heterofermentativas (Hill et al., 2018), siendo el mayor metabolito producido el ácido láctico junto con otros compuestos (Lee et al., 2021). En cambio, *S. cerevisiae* puede producir una variedad de metabolitos que incluyen el alcohol, CO<sub>2</sub>, y otros compuestos (Walker & Stewart et al., 2016). Específicamente, el ácido láctico tiene una baja Tg (44 – 51°C) (Zhang et al., 2022), lo cual puede causar que las partículas se adhieran a las paredes de secador y el ciclo y reducir el rendimiento.

**Tabla 1.** Propiedades físicas del polvo de pulpa de zapote negro fermentado.

Parámetro	Muestras			
	Sin fermentación	<i>L. casei</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<b>Rendimiento (%)</b>	86.55 ± 1.97 a	78.14 ± 1.65 bc	72.87 ± 0.16 c	82.69 ± 1.99 ab
<b>Humedad (%)</b>	4.79 ± 0.47 b	9.04 ± 1.05 a	8.07 ± 0.39 a	8.61 ± 0.56 a
<b><i>a<sub>w</sub></i> (25°C)</b>	0.186 ± 0.008 a	0.158 ± 0.008 b	0.175 ± 0.006 ab	0.190 ± 0.001 a
<b><i>L</i>*</b>	67.18 ± 0.29 a	62.34 ± 0.83 a	68.50 ± 1.35 a	61.87 ± 2.96 a
<b><i>a</i>*</b>	4.6 ± 0.16 a	1.24 ± 0.10 b	-0.09 ± 0.14 c	3.85 ± 0.37 a
<b><i>b</i>*</b>	29.6 ± 0.39 a	27.97 ± 0.13 b	28.76 ± 0.10 ab	29.26 ± 0.29 a
<b>Croma</b>	29.95 ± 0.41 a	28.01 ± 0.12 c	28.76 ± 0.10 bc	29.51 ± 0.24 ab
<b>Hue</b>	81.17 ± 0.18 c	87.46 ± 0.21 b	90.18 ± 0.28 a	82.50 ± 0.78 c

Medias en la misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (prueba de Tukey,  $p < 0.05$ ).

La misma razón puede afectar a la humedad de los polvos. El estado gomoso de un material durante el secado podría dificultar la eliminación de agua por el incremento en la

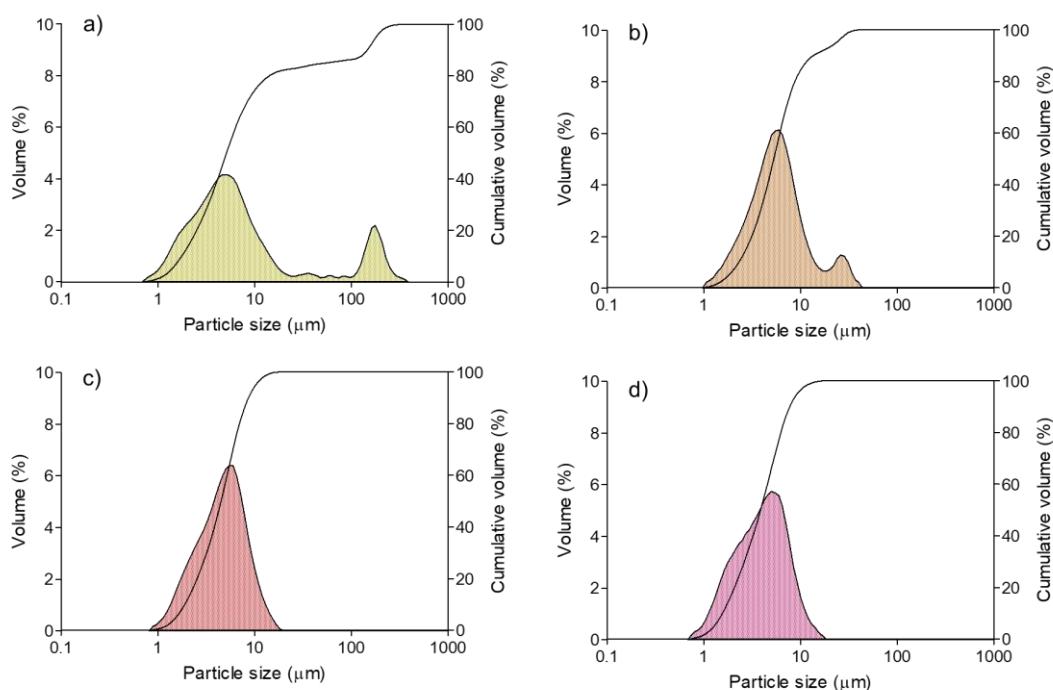
cohesión interna (Fitzpatrick et al., 2007). Todos los polvos obtenidos después de la fermentación tuvieron mayor contenido de humedad comparado con el no fermentado (control) ( $p < 0.05$ ). Lechanteur & Evrard (2002) destaca que los compuestos con bajo Tg son altamente higroscópicos lo cual aumenta el contenido de humedad. Además, el contenido de sólidos totales del extracto después de la fermentación, en especial con bacterias ácido-lácticas fue más alto ( $4.69 \pm 0.31$ ,  $4.79 \pm 0.02$ , *L. casei* y *L. rhamnosus*, respectivamente) comparado con *S. cerevisiae* ( $4.23 \pm 0.16$ ) y el control ( $3.34 \pm 0.23$ ). Una alta cantidad de sólidos puede deberse a la hidrólisis de los componentes de la pared celular de la fruta, los cuales pueden liberar azúcares no fermentables o ácidos orgánicos con alta higroscopicidad (Ramis-Ramos, 2003).

Por otro lado, los valores de actividad de agua ( $a_w$ ) fueron menores a 0.200, indicando que son químicamente estables. Los valores de  $a_w$  mostraron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ), dependiendo del tipo de fermentación; sin embargo, como el agente encapsulante fue el mismo y en la misma proporción, únicamente la diferencia en los metabolitos producidos por la fermentación podría explicar estas diferencias. Algunos de estos metabolitos pueden ser ácidos orgánicos o azúcares. Du et al. (2014), menciona que la estructura química de un compuesto puede presentar diferencias en las propiedades de unión del agua. Por ejemplo, la presencia de ácido láctico podría generar la adhesión de moléculas de agua y la formación de enlaces fuertes (Wijayasingue et al., 2015), lo que lleva a la reducción del agua libre y con ella  $a_w$  (Velezmoro & Meirelles, 1998), no obstante, esto depende de la concentración y el tipo de compuestos.

La presencia de carotenoides, xantofilas, clorofilas, antocianinas y otros compuestos fenólicos en el extracto generan el color café, característico del fruto (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a). El polvo tuvo una apariencia café lechosa debido al color blanco o casi blanco de los agentes encapsulantes (Xiao et al., 2022). El parámetro  $L^*$  mostró que los valores se encontraban en la zona luminosa del espacio de color. Ambos  $a^*$  y  $b^*$  se encontraron en el primer y segundo cuadrante del espacio de color; sin embargo, el tono (*Hue*), fue cercano a  $90^\circ$  lo que indica colores amarillos (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021b). Saturaciones de color menores se observaron para *L. casei* y *L. rhamnosus*. Como se mencionó previamente, la presencia de ciertos compuestos induce a la adhesión de las partículas sobre las paredes del secador y/o el ciclón, lo cual induce reacciones químicas como la oxidación, rompimiento o hidrólisis debido a la temperatura, lo que resulta en una reducción de color o a la formación de otros compuestos (Ghosh et al., 2022; Rodriguez-Amaya, 2016; Rodriguez-Amaya, 2019).

Respecto al tamaño de partícula, los valores se encontraron en un rango de  $0.75 - 352 \mu\text{m}$  para el polvo sin fermentación (Figura 1a). Para las muestras fermentadas, los tamaños de partícula de los polvos fueron  $1.06 - 15.56 \mu\text{m}$  para *L. casei* (Figure 1b),  $0.892 - 13.08 \mu\text{m}$  para *L. rhamnosus* (Figure 1c) y  $0.75 - 12.0 \mu\text{m}$  para *S. cerevisiae* (Figure 1d). Partículas más pequeñas se observaron para el polvo sin fermentación (control) y para *S. cerevisiae*. Sin embargo, la presencia de un gran número de partículas pequeñas puede inducir a aglomeraciones por fuerzas físicas (Zbicinski et al., 2022) después del secado, por ejemplo, para la muestra sin fermentación. Una posible razón por la cual no se observaron aglomeraciones en *S. cerevisiae* podría ser por el rompimiento de estructuras químicas

grandes por la fermentación, así como azúcares o compuestos de la pared celular. Por otro lado, durante el secado se pueden generar puentes entre las partículas que no están completamente secas una vez que colisionan una con otra o cuando alcanzan su estado gomoso debido a la baja Tg (Gianfrancesco et al., 2008), provocando que se generen partículas de mayor tamaño y además se reduzca el rendimiento, por ejemplo, en las muestras fermentadas con bacterias ácido-lácticas.



**Figura 1.** Distribución de tamaño de partícula del polvo de pulpa de zapote negro: a) sin fermentar y fermentado con b) *L. casei*, c) *L. rhamnosus* and c) *S. cerevisiae*.

### ***Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales***

Los resultados de la capacidad antioxidante y de los compuestos fenólicos totales se muestran en la Figura 2. Para observar la respuesta de los diferentes métodos de análisis de compuestos

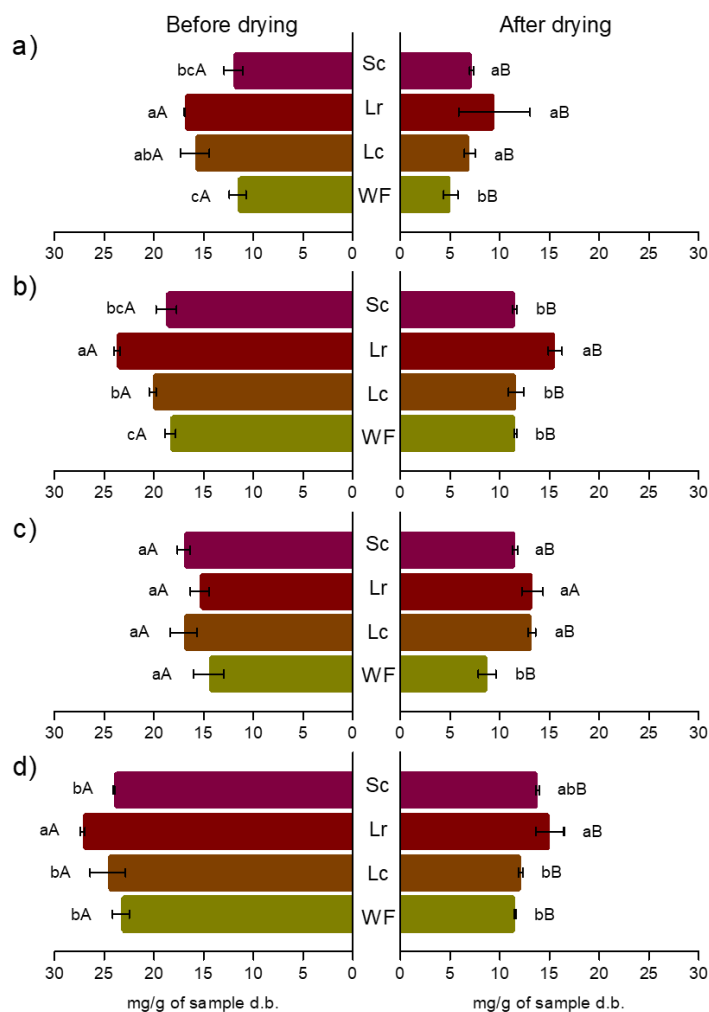


antioxidantes en el extracto, se realizaron diferentes ensayos de capacidad antioxidante. Como mencionan otros autores, DPPH, ABTS, y FRAP, dan resultados comparables para la capacidad antioxidante (Dudonné et al., 2009).

*Extractos del puré fermentado:* La capacidad antioxidante de los extractos de puré procedentes de la fermentación con *L. rhamnosus* y *L. casei* fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que la del control y la de *S. cerevisiae*. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la capacidad antioxidante de las muestras de puré analizadas con el método ABTS. Se ha mencionado que la reproducibilidad del método ABTS se ve afectada por la solución del radical ABTS• ya que requiere un periodo para la formación del radical (Thaipong et al., 2006); sin embargo, el tiempo utilizado en este estudio para la formación del radical fue el utilizado habitualmente para alcanzar la estabilidad del radical. El aumento de compuestos fenólicos totales después de la fermentación se observó en extractos de bayas de mirto (*Myrtus communis*) fermentados con *L. plantarum*; el contenido de TPC fue 5 veces mayor que en el control (Curiel et al., 2015). El aumento de TPC y AC también se ha observado en productos de papaya y piña (ambas frutas tropicales) tras la fermentación ácido-láctica (Fessard et al., 2017).

*Polvos:* Se observaron resultados comparables de la capacidad antioxidante en los polvos cuando se determinó mediante los métodos DPPH y FRAP. En general, los polvos procedentes de la fermentación con bacterias lácticas presentaron una mayor capacidad antioxidante que el control y los polvos procedentes de la fermentación con *S. cerevisiae*. El mismo comportamiento se observó para el TPC. Esto indica que el TPC (entre otros compuestos no cuantificados) podría ser la razón principal de la capacidad antioxidante

(inhibición de radicales libres y capacidad de reducción férrica). Se ha reportado de que las bacterias ácido-lácticas podrían convertir los glucósidos en agliconas con mayor actividad biológica y que las bacterias ácido-lácticas podrían ayudar a liberar fenoles covalentes unidos a la pared celular (Filannino et al., 2018).



**Figura 2.** Capacidad antioxidante (a) DPPH mg TE/g db, (b) FRAP mg Fe(II)/g db, (c) ABTS mg TE/g bs) y compuestos fenólicos totales (d) mg GAE/g db)) de las muestras fermentadas antes del secado (izquierda) y después del secado (derecha). WF es el control sin fermentación. Lc, Lr, y Sc corresponde a las muestras fermentadas con *L. casei*, *L. rhamnosus* y *S. cerevisiae*, respectivamente.

Por otro lado, el secado disminuye la AC y el TPC una vez que pasan por el secador. El efecto de la temperatura sobre el TPC y el AC tiende a disminuir, como han observado otros autores (Bigetti Guergoletto et al., 2020; Lakshmi et al., 2017). Sin embargo, los compuestos de las muestras fermentadas con *L. rhamnosus* siguen siendo más altos en comparación con las otras muestras (Figura 2). El proceso de fermentación produce compuestos o metabolitos secundarios que son producto del metabolismo normal de los microorganismos. En este caso, se ha descrito que *L. rhamnosus* genera compuestos con mayor actividad antioxidante en comparación con otros microorganismos. Filannino et al. (2013) mencionaron que los extractos fermentados de granada mantenían más antioxidantes que los extractos sin fermentar.

### ***Estabilidad del color de los pigmentos reconstituidos***

*Polvos reconstituidos:* El color de los polvos recién dispersos fue café a simple vista para las soluciones de todos los pH y todos los tratamientos: sin fermentación (WF), fermentación con *L. casei* (Lc), fermentación con *L. rhamnosus* (Lr) y fermentación con *S. cerevisiae* (Sc). Sin embargo, los valores de los parámetros de color fueron ligeramente diferentes, dependiendo del pH y del polvo del que procedía para hacer la solución.

En general, los valores de color se situaron en los intervalos 66.77 – 84.84 para  $L^*$ , - 6.21 – 7.98 para  $a^*$ , y 39.41 – 67.71 para  $b^*$  (Tabla 2). Las soluciones WF y Sc eran más cafés que las demás, con valores situados en el primer cuadrante del espacio de color.

Los valores de color  $a^*$  y  $b^*$  aumentaron al aumentar el pH. Se observaron cambios similares en las soluciones Lr y Lc. Sin embargo, los valores de color de las soluciones de

bacterias ácido-lácticas eran ligeramente verdosos, lo que corresponde a valores  $a^*$  negativos (encontrados en el segundo cuadrante del espacio cromático). Esto podría deberse al cambio de clorofilas (verde) a feofitinas (verde-café) mostrando un color verde oliva (Andrés-Bello et al., 2013). Además, la saturación de color (*Croma*) de los pigmentos dispersos fue menor, como indica el parámetro de color  $a^*$ . Por otro lado, los valores de color  $L^*$  disminuyeron ligeramente al aumentar el pH. Para las soluciones procedentes de polvos Lc y Lr a pH 3 a 7, los valores  $a^*$  y  $b^*$  aumentaron.

*Observaciones del tratamiento:* Tras el tratamiento térmico de las soluciones para todos los pH, el color observado a simple vista siguió siendo similar que antes del calentamiento (café). Sin embargo, los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de todas las soluciones cambian para todos los pH ( $p < 0.05$ ). En el caso de las soluciones de *L. casei* y *L. rhamnosus*, los valores  $a^*$  a pH 2, 3 y 4 aumentaron, pero siguieron siendo negativos.

Es bien sabido que el calor induce cambios en las estructuras moleculares de muchos pigmentos, lo que podría dar lugar a cambios o pérdida de color. Sin embargo, todos los pigmentos mostraron una gran estabilidad en un amplio intervalo de pH, lo que puede indicar que los pigmentos de zapote negro podrían utilizarse en diferentes alimentos para sustituir al colorante caramelo utilizado habitualmente en alimentos de color marrón. Además, los pigmentos del zapote negro podrían tener un impacto positivo en la salud humana y el medio ambiente. Y aumentarían el interés por el consumo de zapote negro (Jiménez-González & Guerrero-Beltrán, 2021a).

**Tabla 2.** Estabilidad de color de los pigmentos de zapote negro a diferentes pHs después de un tratamiento térmico (120°C) por 1 hora.

Muestra	pH	Parámetros de color					
		Justo después de ser dispersados a 22 ± 1°C			Después del tratamiento a 120°C		
		<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
WF	2.00	73.79 ± 0.34 aB	2.47 ± 0.29 dA	58.36 ± 0.69 dA	88.46 ± 0.10 aA	-2.04 ± 0.02 dB	18.31 ± 0.27 cB
	3.00	66.77 ± 0.07 fA	7.98 ± 0.10 aA	67.71 ± 0.22 aA	64.38 ± 0.10 eB	3.53 ± 0.01 aB	56.00 ± 0.09 aB
	4.00	73.07 ± 0.14 bA	4.40 ± 0.05 cA	59.89 ± 0.24 cA	65.58 ± 0.23 dB	3.33 ± 0.15 aB	56.79 ± 0.21 aB
	5.00	71.67 ± 0.02 cA	6.56 ± 0.14 bA	63.40 ± 0.33 bA	68.56 ± 0.12 cB	2.09 ± 0.01 bB	56.44 ± 0.08 aB
	6.00	70.97 ± 0.14 dA	7.42 ± 0.14 aA	63.73 ± 0.23 bA	70.17 ± 0.07 bB	1.15 ± 0.04 cB	53.54 ± 0.06 bB
	7.00	69.73 ± 0.01 eA	7.87 ± 0.10 aA	63.31 ± 0.16 bA	68.81 ± 0.45 cB	1.68 ± 0.27 bB	53.51 ± 0.43 bB
Lc	2.00	84.71 ± 0.68 aA	-5.69 ± 0.01 eB	39.41 ± 0.96 cA	75.11 ± 0.19 cB	-0.11 ± 0.04 aA	37.3 ± 0.26 dB
	3.00	84.50 ± 0.07 aA	-5.19 ± 0.02 dB	40.43 ± 0.17 bcB	72.89 ± 0.25 eB	-1.11 ± 0.10 bA	49.74 ± 0.25 abA
	4.00	83.69 ± 0.08 abA	-4.37 ± 0.03 cB	41.85 ± 0.1 abcB	76.72 ± 0.34 abB	-3.58 ± 0.09 eA	50.25 ± 0.37 aA
	5.00	82.61 ± 0.26 bA	-2.34 ± 0.01 bA	40.69 ± 0.36 bcB	77.50 ± 0.22 aB	-3.34 ± 0.15 deB	48.67 ± 0.54 bcA
	6.00	80.57 ± 0.55 cA	-0.63 ± 0.23 aA	42.94 ± 1.15 abB	76.51 ± 0.06 bB	-3.15 ± 0.02 dB	47.96 ± 0.04 cA
	7.00	80.27 ± 0.01 cA	-0.94 ± 0.01 aA	43.37 ± 0.10 aB	74.21 ± 0.16 dB	-1.65 ± 0.11 cB	49.45 ± 0.39 abA
Lr	2.00	84.19 ± 0.43 aA	-6.21 ± 0.03 fB	42.52 ± 0.43 bA	83.13 ± 0.20 aB	-2.47 ± 0.03 bA	26.86 ± 0.30 cB
	3.00	84.84 ± 0.03 aA	-5.82 ± 0.08 eB	42.28 ± 0.19 bB	77.19 ± 0.40 bB	-3.39 ± 0.11 cA	45.76 ± 0.67 dA
	4.00	84.11 ± 0.51 aA	-5.27 ± 0.11 dB	43.43 ± 0.18 bB	77.82 ± 0.10 bB	-4.16 ± 0.05 dA	49.39 ± 0.44 aA
	5.00	82.39 ± 0.07 bA	-3.29 ± 0.01 cA	44.82 ± 0.14 aB	77.82 ± 0.15 bB	-3.46 ± 0.06 cB	49.35 ± 0.33 aA
	6.00	80.36 ± 0.26 cA	-1.04 ± 0.09 bA	45.81 ± 0.52 aB	76.32 ± 0.06 bB	-3.33 ± 0.02 cB	49.23 ± 0.21 aA
	7.00	79.88 ± 0.13 cA	-0.72 ± 0.02 aA	45.75 ± 0.24 aB	73.99 ± 0.86 cB	-1.37 ± 0.36 aB	50.48 ± 1.07 aA
Sc	2.00	69.50 ± 0.06 bcB	4.24 ± 0.03 cA	61.54 ± 0.40 aA	88.57 ± 0.04 aA	-2.18 ± 0.01 eB	19.05 ± 0.01 dB
	3.00	73.32 ± 0.65 aB	2.33 ± 0.37 dA	57.04 ± 1.02 bA	75.77 ± 0.28 bA	-1.16 ± 0.08 dB	43.88 ± 0.31 cB
	4.00	70.81 ± 0.50 bA	4.46 ± 0.36 bcA	61.79 ± 0.65 aA	67.45 ± 0.02 eB	2.03 ± 0.03 aB	56.98 ± 0.32 aB
	5.00	70.17 ± 0.01 bB	5.52 ± 0.07 bA	62.46 ± 0.11 aA	71.07 ± 0.67 cA	0.39 ± 0.30 cB	55.03 ± 0.75 bB
	6.00	68.03 ± 0.26 cdB	7.26 ± 0.19 aA	63.85 ± 0.31 aA	69.51 ± 0.36 cdA	1.10 ± 0.11 bB	54.77 ± 0.30 bB
	7.00	67.08 ± 0.49 dA	7.58 ± 0.46 aA	63.01 ± 0.58 aA	68.04 ± 0.57 deA	1.43 ± 0.27 abB	53.81 ± 0.50 bB

Letras minúsculas distintas en la misma columna para el mismo tratamiento (WF, Lc, Lr, Sc) indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Letras mayúsculas diferentes en la misma fila para el mismo parámetro de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) entre recién dispersado y después del tratamiento térmico representan diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

### *Aplicación de los pigmentos en gomitas*














#### *Color*

Se utilizaron ositos de gomita como la formulación modelo para evaluar el comportamiento de los pigmentos de zapote negro como colorante. La preparación de las gomitas requiere tratamiento térmico y condiciones de acidez debidas al ácido cítrico; ambas condiciones

**Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**

podrían afectar al color de la formulación. El pH de las gomitas se encontró entre 3.38 y 3.43, rango evaluado en la prueba de estabilidad y que presenta una gran estabilidad al tratamiento térmico, este rango fue evaluado en la prueba de estabilidad y presento una buena estabilidad en las comitas sometidas a un tratamiento térmico.

En la Figura 3 se muestra el color de las gomitas con pigmentos WF, Lc, Lr y Sc en polvo (1, 3 y 5%) y sin la adición de pigmentos (control).

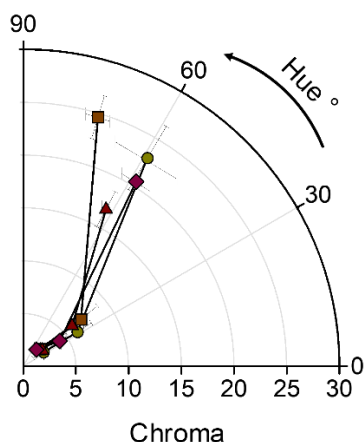
Control sin pigmentos	Gomitas adicionadas con pigmentos de zapote negro ( <i>Diospyros digyna</i> )						
	Tipo	Concentración (%)					
		1%	3%	5%			
 $L^* = 51.12 \pm 5.58$ $a^* = -0.61 \pm 0.64$ $b^* = 13.89 \pm 2.84$	WF	 $L^* = 35.88 \pm 2.95$ $a^* = 11.68 \pm 1.03$ $b^* = 18.63 \pm 4.39$	 $L^* = 23.92 \pm 2.15$ $a^* = 5.05 \pm 0.98$ $b^* = 3.31 \pm 1.38$	 $L^* = 24.05 \pm 3.1$ $a^* = 1.91 \pm 0.3$ $b^* = 1.3 \pm 0.17$			
		Lc	 $L^* = 34.85 \pm 4.17$ $a^* = 7.37 \pm 1.25$ $b^* = 23.52 \pm 2.08$	 $L^* = 20.92 \pm 0.75$ $a^* = 5.41 \pm 1.31$ $b^* = 4.48 \pm 1.56$	 $L^* = 20.56 \pm 2.59$ $a^* = 1.57 \pm 0.49$ $b^* = 1.58 \pm 0.28$		
			Lr	 $L^* = 30.89 \pm 1.88$ $a^* = 7.82 \pm 0.70$ $b^* = 14.83 \pm 1.79$	 $L^* = 22.03 \pm 1.3$ $a^* = 4.6 \pm 1.3$ $b^* = 3.81 \pm 1.3$	 $L^* = 22.01 \pm 1.38$ $a^* = 1.81 \pm 0.91$ $b^* = 1.46 \pm 0.69$	
	Sc	 $L^* = 30.48 \pm 3.31$ $a^* = 10.28 \pm 0.82$ $b^* = 18.16 \pm 1.51$		 $L^* = 21.02 \pm 2.96$ $a^* = 3.49 \pm 0.87$ $b^* = 2.33 \pm 0.4$	 $L^* = 20.56 \pm 1.29$ $a^* = 1.27 \pm 0.52$ $b^* = 1.52 \pm 0.19$		

**Figura 3.** Ositos de gomita sin pigmentos (control) y después de la adición de pigmentos de pulpa de zapote negro: sin fermentación (WF) y después de la fermentación con *L. casei* (Lc), *L. rhamnosus* (Lr), y *S. cerevisiae* (Sc) a distintos niveles (1, 3, 5%) de pigmento.

La gomita control tenía un color verde arenoso translúcido. Una vez añadido el polvo, el color del producto se oscureció (disminución de  $L^*$ ). Los valores de los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$  también cambiaron en comparación con el control. El color final de las gomitas

varió en función de la cantidad de polvo añadida. Al aumentar la cantidad de polvo (pigmento), disminuyó la luminosidad ( $L^*$ ), los valores rojos ( $a^*$ ) y amarillos ( $b^*$ ) de la gomita. El aumento de pigmento modificó el tono ( $Hue$ ) (Figura 4): de  $59,10 \pm 8,51^\circ$  para WF,  $73,24 \pm 2,79^\circ$  para Lc,  $62,10 \pm 1,51^\circ$  para Lr, y  $58,44 \pm 4,40^\circ$  para Sc a  $35^\circ$ . En cuanto a la saturación ( $Croma$ ), fue mayor en los alimentos con bajo contenido en pigmentos (Figura 4).

El color observado en los ositos de gomita puede describirse como similar al color del jarabe de maple para un 1% de polvo y similar al de las bebidas de cola para un 3% de polvo. Por otra parte, según el análisis de estabilidad (Tabla 2), el color de los ositos de gomita (Figura 3) puede persistir durante el procesamiento. Si la intención de añadir pigmentos al alimento es aumentar la capacidad antioxidante, se puede realizar una fermentación previa antes de obtener el polvo que se añadirá al alimento (Figura 2). Otros estudios han demostrado el uso de diferentes pigmentos en alimentos de gomita (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Dewi et al., 2018; Obón et al., 2009; Otálora et al., 2019; Rodríguez-Sánchez et al., 2017), pero ninguno se ha centrado en la obtención de pigmentos de color café o caramelo.



**Figura 4.** Parámetros *Hue* y *Croma* para ●WF, ■Lc, ▲Lr, ◆Sc a los tres niveles de pigmentos adicionados a los ositos de gomita.

### *Evaluación sensorial*

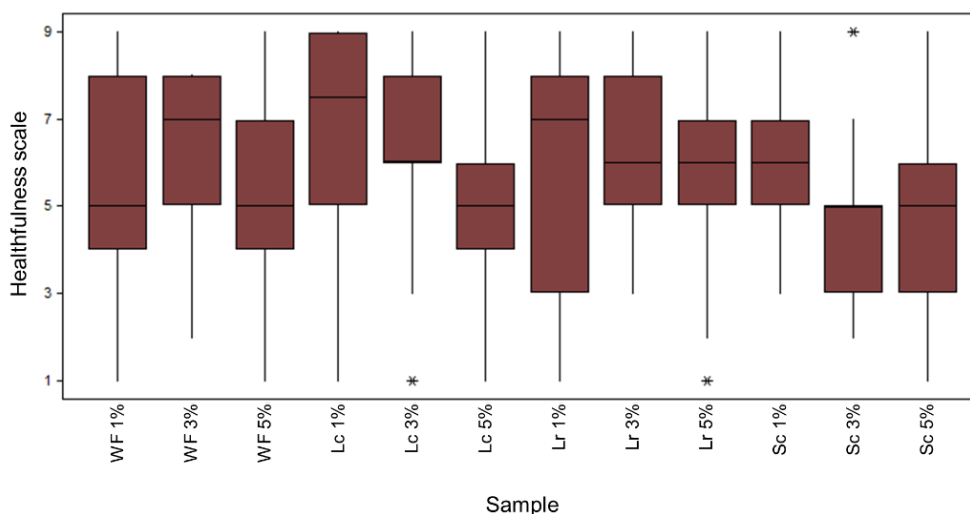
El análisis de preferencia fue usado únicamente para evaluar la apariencia visual. Se les pidió a los evaluadores que solo observaran el producto y dieran su opinión. El análisis estadístico ANOVA reveló que no existían diferencias ( $p < 0.05$ ) en la preferencia entre las gomitas (tipo y cantidad de pigmento). Los resultados indicaron una buena aceptabilidad de todas las muestras. La cantidad de pigmento añadida no afectó en la aceptabilidad; por lo que, los pigmentos pueden ser añadidos a diferentes matrices alimenticias.

Con respecto a la pregunta hecha a los jueces acerca de la relación entre color y la salud, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) debido a la gran cantidad de datos y las variaciones, lo cual es común cuando se trabaja con jueces no entrenados para el análisis sensorial (Losó et al., 2012).

La Figura 5 muestra los valores dados para todas las gomitas. La pregunta fue respondida sobre una escala de 9 puntos, donde 1 equivale a “no saludable” y 9 a “extremadamente



saludable”. La mayoría de los jueces evaluó al color de las muestras arriba de 5, el cual indica “ni saludable, ni no saludable”. Las gomitas que contenían una baja cantidad de pigmento fueron evaluadas como más saludables (de acuerdo con las medias de los datos obtenidos), que aquellas que contenían una alta cantidad de pigmento, excepto por Sc 3% y Lr 1%, que muchas de las evaluaciones dadas por los jueces se encontraron por debajo de 5. Finalmente, aproximadamente el 95% de los jueces, una vez que supieron que los pigmentos provenían de zapote negro (una fuente natural), incrementó su interés y aceptaron cambiar los colorantes artificiales por uno natural.



**Figure 5.** Boxplot para la relación entre el color y la salud de los ositos de gomita coloreados con pigmentos de zapote negro. Control o si fermentación (WF), y/o fermentados con *L. casei* (Lc), *L. rhamnosus* (Lr), y *S. cerevisiae* (Sc) a diferentes niveles de pigmentos (1, 3, and 5%).

## Conclusiones

El presente trabajo demostró que la pulpa de zapote negro podía utilizarse para sustituir al colorante caramelo obtenidos a partir del azúcar. El uso de zapote negro para la obtención de

pigmentos oscuros permitiría la valorización del fruto. Los pigmentos de color café oscuro obtenidos contienen compuestos bioactivos. El proceso de fermentación aumentó los compuestos bioactivos, especialmente cuando la pulpa se fermentó con *Lactobacillus rhamnosus*. Aunque el proceso de secado por aspersión disminuyó la capacidad antioxidante, parte de los compuestos permanece y puede utilizarse como colorante para diferentes tipos de alimentos. Según el ensayo de estabilidad, los pigmentos procedentes de soluciones de pH ácido a neutro resultaron muy estables incluso cuando se sometieron a tratamientos térmicos. La adición de pigmentos a las formulaciones de ositos de gomita fue una buena opción para evaluar el pigmento debido a la acidez y al proceso térmico. A medida que se aumentaba la cantidad de pigmento en la formulación, el color cambiaba de un color parecido a la miel de maple a un color oscuro de bebida de cola. La cantidad de pigmento añadida a las formulaciones de gomitas no afectó a la preferencia de estas por parte de los jueces. El aumento de color en el alimento se consideró poco saludable; sin embargo, una vez que los jueces supieron que la coloración de los ositos de gomita se debía a pigmentos naturales, el alimento fue mejor aceptado. No obstante, deben realizarse futuros estudios sobre el aspecto del sabor para dilucidar si la fermentación genera compuestos aromáticos que puedan mejorar o disminuir la aceptabilidad (no sólo visual).

### **Contribuciones de los autores**

Jiménez-González, Oscar: Conceptualización, obtención de datos, análisis, metodología, escritura del manuscrito original, y escritura, revisión y edición; González-Perez, Julio: Obtención de datos, análisis, metodología; Mejía-Garibay, Beatriz: Conceptualización,

metodología; Lopez-Malo, Aurelio: Conceptualización, metodología, y Guerrero-Beltrán, José Ángel: Supervisión, conceptualización, metodología, escritura del manuscrito original, y escritura, revisión y edición.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen ningún conflicto de intereses con respecto al estudio, autoría y o publicación de este artículo.

### Agradecimientos

Los autores Jiménez-González and González-Perez agradecen a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México por el apoyo financiero para la realización de los estudios doctorales.

### Referencias

- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., & Mun'im, A. (2017). Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) kunth using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7), 660-665. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.010>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, 181, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003>
- Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., & Martínez-Monzó, J. (2013). Effect of pH on Color and Texture of Food Products. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 158-170. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9067-2>
- APHA, (American Public Health Association), AWWA, (American Water Works Association), & WEF, (Water Environment Federation). (1992). 2120 COLOR. En M. A. H. Franson (Ed.), *Standard methods for the examination of water and*

- wastewater* (18.<sup>a</sup> ed., Vol. 1-0). American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.017>
- Arellano-Gómez, L. A., Saucedo-Veloz, C., & Arévalo-Galarza, M. L. (2005). Cambios bioquímicos y fisiológicos durante la maduración de frutos de zapote negro (*Diospyros digyna* jacq.). *Agrociencia*, 39(2), 173-181.
- Bhandari, B. R., Senoussi, A., Dumoulin, E. D., & Lebert, A. (1993). Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11(5), 1081-1092. <https://doi.org/10.1080/07373939308916884>
- Bigetti Guergoletto, K., Landucci Bonifácio, K., Sabbatini Barbosa, D., Farinha Valezi, D., Salviato, A., Di Mauro, E., Iouko Ida, E., Garcia, S., Road – Pr 445 Km 380, Londrina, Paraná, Brazil, & Physics Department; State University of Londrina, Celso Garcia Cid Road – Pr 445 Km 380, Londrina, Paraná, Brazil. (2020). Influence of spray-drying and room temperature storage on the anti- and prooxidant properties of fermented *Juçara Pulp*. *Food Technology and Biotechnology*, 58(1), 29-37. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6335>
- Bolanos de la Torre, A. A. S., Henderson, T., Nigam, P. S., & Owusu-Apenten, R. K. (2015). A universally calibrated microplate ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay for foods and applications to Manuka honey. *Food Chemistry*, 174, 119-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.009>
- Brimmer, K. (2017). *Replacement strategies for caramel coloring using natural ingredients*. Sensient Food Colors. <https://sensientfoodcolors.com/en-us/dry-grocery/replacement-strategies-caramel-coloring/>
- Burey, P., Bhandari, B. R., Rutgers, R. P. G., Halley, P. J., & Torley, P. J. (2009). Confectionery gels: A Review on formulation, rheological and structural aspects. *International Journal of Food Properties*, 12(1), 176-210. <https://doi.org/10.1080/10942910802223404>
- Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G. A., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries. *Microbial Cell Factories*, 14, 67. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0250-4>
- Dewi, E. N., Kurniasih, R. A., & Purnamayati, L. (2018). The application of microencapsulated phycocyanin as a blue natural colorant to the quality of jelly candy. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 116, 012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/116/1/012047>
- Du, J., Ge, Z.-Z., Xu, Z., Zou, B., Zhang, Y., & Li, C.-M. (2014). Comparison of the Efficiency of Five Different Drying Carriers on the Spray Drying of Persimmon Pulp Powders. *Drying Technology*, 32(10), 1157-1166. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.886259>

- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- Fessard, A., Kapoor, A., Patche, J., Assemat, S., Hoarau, M., Bourdon, E., Baborun, T., & Remize, F. (2017). Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas. *Microorganisms*, 5(2), 23. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020023>
- Filannino, P., Azzi, L., Cavoski, I., Vincentini, O., Rizzello, C. G., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 184-192. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.002>
- Filannino, P., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2018). Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: Get out of the labyrinth. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.016>
- Fitzpatrick, J. J., Hodnett, M., Twomey, M., Cerqueira, P. S. M., O'Flynn, J., & Roos, Y. H. (2007). Glass transition and the flowability and caking of powders containing amorphous lactose. *Powder Technology*, 178(2), 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2007.04.017>
- Gacula, M. C., & Singh, J. (1984). *Statistical Methods in Food and Consumer Research*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02978-X>
- Garber, L. L., Hyatt, E. M., & Nafees, L. (2016). The effects of analogous food color on perceived flavor: A factorial investigation. *Journal of Food Products Marketing*, 22(4), 486-500. <https://doi.org/10.1080/10454446.2015.1072866>
- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., & Chakraborty, R. (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *LWT*, 153, 112527. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112527>
- Gianfrancesco, A., Turchiuli, C., & Dumoulin, E. (2008). Powder agglomeration during the spray-drying process: Measurements of air properties. *Dairy Science and Technology*, 88(1), 53-64. <https://doi.org/10.1051/dst:2007008>
- Gómez-García, R., Vilas-Boas, A. A., Machado, M., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2022). Impact of simulated in vitro gastrointestinal digestion on bioactive compounds, bioactivity and cytotoxicity of melon (*Cucumis melo* L. inodorus) peel juice powder. *Food Bioscience*, 47, 101726. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101726>

- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021a). *Diospyros digyna* (black sapote), an Undervalued Fruit: A Review. *ACS Food Science & Technology*, 1(1), 3-11. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00103>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2021b). Extraction, microencapsulation, color properties, and experimental design of natural pigments obtained by spray drying. *Food Engineering Reviews*, 13(4), 769-811. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09288-7>
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2022). Microencapsulates by spray of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG from fermented whole or skimmed cow's milk added with Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*) extract using mesquite gum as carrier agent. *Heliyon*, 8(9), e10733. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10733>
- Krahl, T., Fuhrmann, H., & Dimassi, S. (2016). Ice Cream. En *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* (pp. 197-207). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00009-9>
- Lakshmi, N. M., Umashankar, K., Chandralekha, A., Raghavarao, K., Jayan, N. M., Salini, C., Pandey, A., & Binod, P. (2017). Spray drying as effective encapsulation method for phenol degrading bacteria. *Indian J Exp Biol*, 55, 8.
- Lechanteur, A., & Evrard, B. (2020). Influence of Composition and Spray-Drying Process Parameters on Carrier-Free DPI Properties and Behaviors in the Lung: A review. *Pharmaceutics*, 12(1), 55. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010055>
- Lee, S.-J., Jeon, H.-S., Yoo, J.-Y., & Kim, J.-H. (2021). Some Important Metabolites Produced by Lactic Acid Bacteria Originated from Kimchi. *Foods*, 10(9), 2148. <https://doi.org/10.3390/foods10092148>
- Lehto, S., Buchweitz, M., Klimm, A., Straßburger, R., Bechtold, C., & Ulberth, F. (2017). Comparison of food colour regulations in the EU and the US: A review of current provisions. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(3), 335-355. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1274431>
- Losó, V., Gere, A., Györey, A., Kókai, Z., & Sipos, L. (2012). Comparison of the performance of a trained and an untrained sensory panel on sweetcorn varieties with the panelcheck software. *Applied Studies in Agribusiness and Commerce*, 6(1-2), 77-83. <https://doi.org/10.19041/APSTRACT/2012/1-2/10>
- Mannino, G., Serio, G., Berteza, C. M., Chiarelli, R., Lauria, A., & Gentile, C. (2022). Phytochemical profile and antioxidant properties of the edible and non-edible portions of black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Food Chemistry*, 380, 132137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132137>

- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, *52*, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009>
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2009). Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, *90*(4), 471-479. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>
- Otálora, M. C., de Jesús Barbosa, H., Perilla, J. E., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2019). Encapsulated betalains (*Opuntia ficus-indica*) as natural colorants. Case study: Gummy candies. *LWT*, *103*, 222-227. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.074>
- Ramesh, M., & Muthuraman, A. (2018). Flavoring and Coloring Agents: Health Risks and Potential Problems. En *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes* (pp. 1-28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811518-3.00001-6>
- Ramis-Ramos, G. (2003). ANTIOXIDANTS | Synthetic Antioxidants. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 265-275). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00054-7>
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments—A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, *124*, 200-205. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028>
- Rodríguez-Sánchez, J. A., Cruz y Victoria, M. T., & Barragán-Huerta, B. E. (2017). Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. *Food Research International*, *91*, 63-71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.023>
- Scheffé, H. (1952). An Analysis of Variance for Paired Comparisons. *Journal of the American Statistical Association*, *47*(259), 381-400. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10501179>
- Scotter, M. J. (2011). Emerging and persistent issues with artificial food colours: Natural colour additives as alternatives to synthetic colours in food and drink. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, *3*(1), 28-39. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2010.00087.x>
- Stich, E. (2016). Food Color and Coloring Food. En *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* (pp. 3-27). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00001-4>
- Sukkwai, S., Kijroongrojana, K., Chonpracha, P., Pujols, K. D., Alonso-Marengo, J. R., Ardoin, R., & Prinyawiwatukul, W. (2018). Effects of colorant concentration and ‘natural colour’ or ‘sodium content’ claim on saltiness perception, consumer liking

- and emotion, and purchase intent of dipping sauces. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1246-1254. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13704>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Velezmoro, C. E., & Meirelles, A. J. A. (1998). WATER ACTIVITY IN SOLUTIONS CONTAINING ORGANIC ACIDS. *Drying Technology*, 16(9-10), 1789-1805. <https://doi.org/10.1080/07373939808917496>
- Vollmuth, T. A. (2018). Caramel color safety – An update. *Food and Chemical Toxicology*, 111, 578-596. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.004>
- Walker, G., & Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), 30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- Wijayasinghe, R., Vasiljevic, T., & Chandrapala, J. (2015). Water-lactose behavior as a function of concentration and presence of lactic acid in lactose model systems. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8505-8514. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9959>
- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate Polymers*, 298, 120113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113>
- Yahia, E. M., De Jesus Ornelas-Paz, J., & Gonzalez-Aguilar, G. A. (2011). Nutritional and health-promoting properties of tropical and subtropical fruits. En *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 21-78). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857093622.21>
- Yahia, E. M., Gutierrez-Orozco, F., & Leon, C. A. (2011). Phytochemical and antioxidant characterization of the fruit of black sapote (*Diospyros digyna* Jacq.). *Food Research International*, 44(7), 2210-2216. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.025>
- Zbicinski, I., Ciesielski, K., & Ge, B. (2022). Mechanism of particle agglomeration for single and multi-nozzle atomization in spray drying: A review. *Processes*, 10(4), 727. <https://doi.org/10.3390/pr10040727>
- Zhang, L., Zeng, X., Fu, N., Tang, X., Sun, Y., & Lin, L. (2018). Maltodextrin: A consummate carrier for spray-drying of xylooligosaccharides. *Food Research International*, 106, 383-393. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.004>
- Zhang, R., Du, F., Jariyavidyanont, K., Zhuravlev, E., Schick, C., & Androsch, R. (2022). Glass transition temperature of poly(D,L-lactic acid) of different molar mass. *Thermochimica Acta*, 718, 179387. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2022.179387>



# 5. Conclusiones generales

En general la microencapsulación permitió la encapsulación de pigmentos, ayudó a conservarlos sin perder su color, se obtuvieron valores de humedad y  $a_w$  bajos lo cual le da estabilidad química y microbiológica. Además, las propiedades antioxidantes se mantuvieron después del secado y estas podrían ayudar a la generación de alimentos fortificados o nutracéuticos debido a que incrementan las propiedades bioactivas. Por otro lado, gracias a la fermentación se pudieron generar cambios tanto físicos como bioactivos: i) Se redujo la viscosidad debido a la hidrólisis de compuestos o cadenas largas de polisacáridos presentes en las frutas. Además, ii) la fermentación ayudó a la liberación de compuestos como los pigmentos, iii) facilitando la extracción de estos mismos debido a que muchos de estos se encuentran adheridos a la pared celular vegetal, iv) lo anterior incrementó la cantidad de moléculas bioactivas en el extracto siendo la suma de las que ya se encontraban presentes junto con metabolitos secundarios producto de la fermentación con actividad biológica. v) Lo anterior incrementó la actividad/capacidad antioxidante.

Debido a que se evaluaron diferentes agentes encapsulantes (goma arábica, maltodextrina, proteínas lácteas) combinados con la goma de mezquite para diferentes tipos

de pigmentos (antocianinas, betalaínas y carotenoides). Se puede concluir que la combinación de agentes encapsulantes permite la obtención junto con altos rendimientos de pigmentos microencapsulados. Y si bien se pueden presentar aglomeraciones entre microcápsulas, estas están dadas por la composición del extracto.

La variedad de pigmentos evaluados en el presente trabajo demostró que existen diversas y diferentes fuentes para la obtención de pigmentos con potencial para funcionar como colorantes. Y que los modelos probabilísticos y matemáticos pueden predecir de manera adecuada el comportamiento de estos como ingrediente, y que deben ser utilizados para describir el tiempo de vida de más productos y/o ingredientes. En particular se trabajaron con colores como el rojo de las betalaínas de pitaya roja, del muicle a pH ácidos; morado-azul, de las antocianinas a pH neutro del muicle; y tonos cafés o caramelo de los pigmentos del zapote negro.

Asimismo, dado que los pigmentos obtenidos presentaron potencial antioxidante, estos podrían ser un ingrediente importante en formulaciones alimenticias. Algunos de sus usos podrían encontrarse en la confitería la cual es un área que hace un gran uso de estos.

Finalmente, la exploración de productos naturales para la extracción de pigmentos puede incrementar su consumo y generar oportunidades en la producción y desarrollo agrícola, aumentando el valor hortofrutícola.

## 6. Recomendaciones generales

Como resultado de la presente investigación, se presentan las siguientes recomendaciones:

Utilizar o estudiar otras fuentes para la extracción de pigmentos de frutos o plantas que no estén siendo consumidas, así como desechos agroindustriales que pueden servir como una fuente importante de pigmentos.

Desarrollar tecnologías de extracción de pigmentos que sean amigables con el medio ambiente, eficaces, selectivas y rentables.

Optimizar la extracción y explorar el uso de otros agentes encapsulantes que protejan o prolonguen la vida de los pigmentos antes de ser adicionados a un alimento.

Utilizar técnicas como la cromatografía líquida o cromatografía líquida acoplada a masas para la identificación de los compuestos responsables del color una vez extraídos y/o encapsulados los pigmentos.

## **Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante**

---

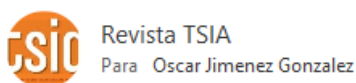
Realizar estudios donde se combinen dos o más pigmentos en diferentes proporciones para obtener tonos más específicos que se adecuen más a la demanda actual.

Utilizar estos pigmentos en estudios más específicos, como el efecto a largo plazo en sistemas animales, sus propiedades nutracéuticas sobre líneas celulares más específicas o en modelos in vivo, así como en procesos de digestibilidad y saber si los pigmentos son estables.

Determinar las condiciones óptimas de almacenamiento y evaluar condiciones normales de proceso y extremas, evaluando parámetros como color, para saber si pueden ser utilizados en alimentos.

Aplicar estos pigmentos en matrices alimenticias como confitería, panadería y bebidas, ya que son de las áreas que mayor uso hacen de los colorantes.

## 7. Anexos7.1. Publicaciones



18/05/2020

Estimado autor,

*Es un placer informarle que su artículo de revisión:*

***“Uso de gomas naturales en la microencapsulación de pigmentos (antocianinas, betalaínas y carotenoides) mediante secado por atomización y liofilización”***

ha sido **aceptado** para ser publicado en el **Vol. 14 de la Revista TSIA**.

Se procederá a la revisión de formato editorial y se le contactará posteriormente en caso de requerir realizar últimos cambios, así como su aprobación de la versión final, previo al envío del manuscrito al departamento de publicaciones.

Favor de comunicar a los coautores del artículo.

Quedamos atentos para cualquier duda al respecto.

Saludos cordiales,

*Comité Editorial*

*Revista TSIA- Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*

Made available for a limited time for personal research and study only [license](#). ACS  
**FOOD**  
SCIENCE & TECHNOLOGY

pubs.acs.org/acsfocscitech Review

## *Diospyros digyna* (black sapote), an Undervalued Fruit: A Review

Oscar Jiménez-González and José Á. Guerrero-Beltrán\*

Cite This: <https://dx.doi.org/10.1021/acsfocscitech.0c00103> Read Online

ACCESS | Metrics & More | Article Recommendations

**ABSTRACT:** *Diospyros digyna* (black sapote) is a fruit of the Ebenaceae family. Its cultivation is centered in different regions of America, particularly in Mexico, where it originated. The main use of this fruit is for direct consumption or as an ingredient for making desserts. In spite of its nutritional characteristics, its rate of consumption is very low, providing an opportunity to make novel ready-to-eat or processed products. Some compounds found in the fruit, such as phenolic compounds and carotenoids, give it its characteristic dark brown color. Due to the content of vitamin C, vitamin E, and calcium, among other nutrients, black sapote could be considered a functional food. This review describes different aspects of the fruit: its origin, changes in its physicochemical characteristics during the growth and ripening of the fruit, pigments, and sensory, bioactive, and nutritional characteristics. It also summarizes different studies that mention its use for treating some ailments and its use as an antimicrobial.

**KEYWORDS:** black sapote, *Diospyros digyna*, composition, bioactive compounds, fruit uses

### INTRODUCTION

The *Diospyros* genus belongs to the Ebenaceae family.<sup>1–3</sup> Phylogenetic studies have demonstrated its relationship with species such as *Euclea* (*Euclea crispa*) found in Africa.<sup>4,5</sup> It comprises between 400 and 500 different species distributed around the world.<sup>5</sup> The region with the highest number of specimens is Asia (300 species), followed by America (South, Central, and North America) (100 species);<sup>5</sup> 20 species are grown in Mexico.<sup>6</sup>

Many species of the genus *Diospyros* produce fruits; however, not all are edible.<sup>5</sup> The most studied species are *Diospyros kaki* (in general in Asia, China, and specifically Japan), *Diospyros virginiana* (United States), *Diospyros lotus* (date-plum), *Diospyros blancoi*, also known as *Diospyros discolor* (mabolo), and *Diospyros digyna* (black sapote),<sup>7</sup> the latter being the most important, exploited, and commercialized species in Mexico.<sup>6</sup>

In addition to the consumption of the fruit, the cultivation of *D. digyna* is important for several reasons. For example, roots, wood, leaves, fruits, and seeds have been used due to their medicinal properties<sup>5</sup> against asthma and dermatitis and disorders such as hypertension, atherosclerosis, lumbago, hemorrhages, insomnia, digestion, etc.<sup>8</sup> Furthermore, the fruits have been associated with decreasing fever and the level of sugar in the blood of people with type 2 diabetes and the relief of constipation, acting as a laxative,<sup>4,9</sup> which may be related to the compounds present in the fruit, such as different types of phenolic compounds and vitamins, which in turn contribute to the high antioxidant activity.

In recent years, production in Mexico has been around 15000 tons per year, with a value of approximately \$201050/ton.<sup>10</sup> Many of those tons are wasted due to the lack of interest in sales due to low rate of consumption, although it has been mentioned that the species is not susceptible to diseases or pests.<sup>11</sup> Some studies have suggested that *D. digyna* could be a good host for *Bephratelloides ablusus* (insect), considered a pest,<sup>12</sup> *Aleyrodidae* (whitfly),<sup>13</sup> and *Hypocala andremona* larvae in the foliage.<sup>14</sup>

Despite the different attributes of the fruit, very little research has been carried out; most studies have focused on characterizing some of the compounds present, along with some biochemical and physicochemical characteristics, or in the preparation of some foods. However, on the basis of the studies reviewed, the fruit can be used as an ingredient due to its varied combination of compounds, which can result in bioactive compounds with the potential to enrich or fortify foods.

The objective of this review was to present the current knowledge of *D. digyna* (black sapote), including the chemical composition, functional and aromatic compounds, and its uses, and to demonstrate that black sapote had the potential to act as a food ingredient or be used to make processed products.

### BLACK SAPOTE (*D. DIGYNA*)

Its exact origin is unknown, but given the evidence, it is presumed that it originated in Mexico.<sup>15</sup> It is common in tropical and subtropical areas,<sup>6</sup> especially on the banks of rivers or humid zones.<sup>6,16</sup> It is currently found mainly in Mexico and Central America.<sup>11,17</sup> The Spanish people brought it to the Philippines in the 16th century.<sup>11</sup> Its production and consumption are common in southern Mexico, mainly in the states of Oaxaca, Chiapas, Yucatan,<sup>18–21</sup> Veracruz, Tabasco,

Received: November 18, 2020  
Revised: January 19, 2021  
Accepted: January 22, 2021

ACS Publications © XXXX American Chemical Society A

<https://dx.doi.org/10.1021/acsfocscitech.0c00103>  
ACS Food Sci. Technol. XXXX, XXX, XXX–XXX

See <https://pubs.acs.org/sharingguidelines> for options on how to legitimately share published articles.



## Extraction, Microencapsulation, Color Properties, and Experimental Design of Natural Pigments Obtained by Spray Drying

Oscar Jiménez-González<sup>1</sup> · José Ángel Guerrero-Beltrán<sup>1</sup>

Received: 8 February 2021 / Accepted: 27 April 2021  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

### Abstract

Carotenoids, chlorophylls, betalains and anthocyanins from natural sources have gained popularity due to the benefits to the health of consumers and their multiple uses in the food and other industries. Specifically in the food industry, these pigments are used or could be used as food colorants; however, their use could be affected by environmental factors endangering their stability. Microencapsulation by spray drying is a technique that helps to preserve pigments after incorporating a coating or carrier agent that protects and eases their integration to foods. This review describes the different steps (extraction, pretreatments of the extract, homogenization of the encapsulated agent, spray drying, and stability of the powder obtained) by which microencapsulated pigments can be obtained from different natural sources. In addition, mathematical methods are analyzed to explore how the different parameters affect the drying associated responses. The use of some common and uncommon encapsulating agents is also discussed. It is also mentioned the obtention of some pigments with the spray drying technic. Finally, a section about the uses of microencapsulated pigments in recent years is included.

**Keywords** Spray drying · Microencapsulation · Natural pigments · Drying steps · Stability of pigments · Color

### Introduction

Color in foods is related to consumer expectations (appearance, flavor and aroma) and intensity of flavors or any other attribute such as sweetness [1–4], acidity, and saltiness, among many others sensory attributes. Color is a physical characteristic of acceptability and is involved in the sensation of pleasure and in the evocation of emotions or people's feelings [5, 6]. The intensity or saturation of the color acts as a quality factor [7]. However, most processes affect the food color in some part of the process [7]. Therefore, in many cases, the addition of food colorings is necessary to standardize, recover, improve, or increase the color of foods and beverages [8, 9]. Currently, the two recognized classifications of coloring materials are synthetic colorants, which need a certification given by a "safety for humans" association, and natural pigments, exempt from certification, according to the restrictions of each country [10].

This review summarizes different works performed in recent years on the microencapsulation of natural pigments by spray drying. It shows the procedures currently used for the extraction and stabilization of pigments, as well as the use of different encapsulating agents and the applications of pigments in food systems.

### Natural Pigments

The most common natural pigments are chlorophylls, carotenoids, flavonoids, and betalains [11]. In general, pigments like anthocyanins and betalains are soluble in water. In contrast, carotenoids and chlorophylls are fat soluble. Depending on the characteristics of the pigment, when it is used as a concentrated extract from fruits or vegetables for coloring other foods, they are dispersible in water; however, the appearance in the matrix when used in foods could have a cloudy appearance. Basic structure of common natural pigments is show in Fig. 1. Natural pigments, in addition to coloring, can have other properties due to their nutraceutical characteristics, important in the prevention and treatment of some ailments [12–17]. A disadvantage of using natural pigments is their great instability under different

✉ José Ángel Guerrero-Beltrán  
angel.guerrero@udlap.mx; joseangel150@hotmail.com

<sup>1</sup> Depto. Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental,  
Universidad de las Américas Puebla, Ex Hda. Sta. Catarina  
Mártir, San Andrés, 72810 Cholula, Puebla, Mexico

# Microencapsulates of *Stenocereus pruinosus* Fermented Juice and Their Bioactive Compounds Using Maltodextrin, Gum Arabic, and Mesquite Gum as Carrier Agents

Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán\*

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas, Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, Cholula, Puebla 72810, México

Received May 20, 2022; Revised June 24, 2022; Accepted July 25, 2022

## Cite This Paper in the Following Citation Styles

(a): [1] Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán, "Microencapsulates of *Stenocereus pruinosus* Fermented Juice and Their Bioactive Compounds Using Maltodextrin, Gum Arabic, and Mesquite Gum as Carrier Agents," *Food Science and Technology*, Vol. 10, No. 3, pp. 75 - 88, 2022. DOI: 10.13189/fst.2022.100302.

(b): Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán (2022). Microencapsulates of *Stenocereus pruinosus* Fermented Juice and Their Bioactive Compounds Using Maltodextrin, Gum Arabic, and Mesquite Gum as Carrier Agents. *Food Science and Technology*, 10(3), 75 - 88. DOI: 10.13189/fst.2022.100302.

Copyright©2022 by authors, all rights reserved. Authors agree that this article remains permanently open access under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0 International License

**Abstract** Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) is a Mexican endemic and highly nutritive fruit, but it is very perishable. Juice contains high amounts of beneficial compounds, especially betalains; however, the viscosity, due to the mucilage, limits its use as pigment in foods. In order to obtain the pitaya pigments to be encapsulated, a simplex-lattice-design was used. Pitaya fermented juices were mixed with mesquite gum (MG), gum arabic (GA), maltodextrin (MDX) or their combinations (5% w/v) and then encapsulated by spray drying at an inner temperature of 160°C. Microcapsules were analyzed in color, bioactive compounds and some physicochemical characteristics. The results showed that three single agents and their combinations (binary and ternary) allowed the obtention of powders. The use of the simplex lattice design revealed the differences in the combination of carrier agents for encapsulation. All yields varied in the range of 64-84%. All powders had moisture content below 6% and water activity around 0.208. Powders showed a pale-red color (*Hue* and *Chroma* around 16 and 32, respectively). Powders with MG and GA had the highest red index values. The MG-GA combination retained the higher amount of betalains (3.28± 0.09 mg of total betalains/g powder, particularly betaxanthins). The phenolic compounds content of powders ranged from 8.01-10.77 mg Gallic acid

equivalents/g powder and a maximum antioxidant activity of 15.05 mg Trolox equivalents/g powder, particularly the ternary blend (MG-GA-MDX). The antioxidant activity was dominated by other phenolic compounds rather than betalains. Microencapsulated pigments from red pitaya could be used as natural colorants in the food industry. However, further studies should be performed to estimate the potential use of powders as colorants in food systems.

**Keywords** Microencapsulation, *Stenocereus pruinosus*, Red Pitaya, Mesquite Gum, Gum Arabic, Bioactive Compounds

## 1. Introduction

Pigments, particularly those obtained from natural sources have gained importance in the food industry, since they could replace synthetic colorants, which have been associated with some ailments when they are consumed frequently. According to some studies, they could alter the children's behavior, increase respiratory allergies and in extreme cases show genotoxic activity [1]. The most common natural pigments are chlorophylls, carotenoids,





Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry: Molecular Sciences

journal homepage: [www.sciencedirect.com/journal/food-chemistry-molecular-sciences](http://www.sciencedirect.com/journal/food-chemistry-molecular-sciences)

## Thermal and pH stability of *Justicia spicigera* (Mexican honeysuckle) pigments: Application of mathematical probabilistic models to predict pigments stability

Oscar Jiménez-González<sup>1</sup>, Aurelio López-Malo, Julio Emmanuel González-Pérez, Nelly Ramírez-Corona, José Ángel Guerrero-Beltrán<sup>\*,2</sup>

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex Hacienda de Santa Catarina Martín, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, Mexico

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*)  
Pteridins  
Anthocyanins  
Pigments degradation  
Color stability  
Time-to-failure model

### ABSTRACT

Kinetic and probabilistic (Time-to-Failure, TTF) models were used to predict the color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  total color differences ( $\Delta E$ ), Hue and Chroma) stability of *Justicia spicigera* leaves pigments subjected to different temperatures (40 – 80 °C) and pHs (2 – 12). The change in pH caused different hues (from 60° = orange red to 268° = deep-blue) due to the shift effect of anthocyanins in the extract. Temperatures higher than 60 °C increased the color degradation. High heat sensitivity was observed at pH 4 ( $E_a = 90.27$ ) and 10 ( $E_a = 154.99$  kJ/mol). The Time-to-Failure model for both  $\Delta E$  and Hue describes the effect of pH and temperature in the *J. spicigera* extracts. High pHs and temperatures applied to the extracts increased the probability of showing  $\Delta E > 4$  or Hue changes over 20 %. Nearby the neutral region of pH, pigments of *J. spicigera* were more stable. The TTF model might be a useful tool to describe and predict the behavior of pigments added to foods.

### 1. Introduction

Today, the use of natural pigments in the food industry has increased. The addition of colorants or pigments to foods may influence their appearance, and the decision and purchase intention by consumers. Natural pigments, such as carotenoids, chlorophylls, betalains and anthocyanins have shown multiple health benefits due to their antioxidant characteristics (Rodríguez-Amaya, 2016; Rodríguez-Amaya 2019). Anthocyanins, important water soluble-colored-harmless flavonoids (Rajan et al., 2018), are found in many fruits, vegetables and flowers. Anthocyanins can be found in red, purple or blue colors (Khoo et al., 2017). This characteristic makes anthocyanins to be potential natural pigments for foods and beverages. However, anthocyanins are unstable to physical and chemical factors such as pH, temperature, oxygen, light, enzymes, sugars, co-pigments, among other factors (Ahmed et al., 2002; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Gençdağ et al., 2022; Rajan et al., 2018). Moreover, temperatures and pH are the most important factors in color stability because the structure of the molecule may change (Liu et al., 2018; Loyppimai et al., 2016; Roobha et al., 2011).

Temperature could destroy the anthocyanin when this increase (Liu et al 2018). On the other hand, pH affects the structure of the molecules which leads in distinct colors (Rakić & Poklar Ulrih, 2021). However, some of the anthocyanin forms are highly unstable and tend to lose their color.

*Justicia spicigera* (Mexican honeysuckle) is a shrub which has been used since pre-Hispanic (before the Hispanic conquest) times in America for coloring textiles or crafts; it has shown also multiple health benefits (Baqueiro-Peña & Guerrero-Beltrán, 2017). Decoction of leaves in water results in a pink-purple color extract that is rich in different polyphenols, including anthocyanins (Awad et al., 2015) which once concentrated it turns into a deep blue color. These pigments could be used as natural colorants due to their wide range of hues (from red to blue) (Rajan et al., 2018). Recently, the *Justicia spicigera* pigments were used to increase bioactive compounds and for coloring purposes in "tortillas" of maize (flat Mexican bread) (Alvarez-Poblano et al., 2020). In other study, pigments were added to yogurt and jelly to obtain functional foods with attractive color (Castro-Alatorre et al., 2021). Also, pigments were encapsulated by spray drying to increase its stability and preserve

\* Corresponding author.

E-mail address: [angel.guerrero@udlap.mx](mailto:angel.guerrero@udlap.mx) (J.Á. Guerrero-Beltrán).

<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-5445-5033.

<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-5440-6677.

<https://doi.org/10.1016/j.fchems.2022.100158>

Received 5 August 2022; Received in revised form 5 December 2022; Accepted 11 December 2022

Available online 13 December 2022

2666-5662/© 2022 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Research article

Microencapsulates by spray of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG from fermented whole or skimmed cow's milk added with Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*) extract using mesquite gum as carrier agent



Oscar Jiménez-González, José Ángel Guerrero-Beltrán\*

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hda. Sta. Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Cholula, Puebla 72810, Mexico

ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Microencapsulated pigments  
*Justicia spicigera* extracts  
Fermented milk  
*Lactocaseibacillus rhamnosus* GG  
Antioxidants  
Anthocyanins

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the effect of the addition 5% Mexican honeysuckle (*Justicia spicigera*) extract (JSE) in spray dried encapsulates of whole and skimmed unfermented and fermented cow's milk with *Lactocaseibacillus rhamnosus* (LR). All samples were spray dried at 160 °C. Samples were analyzed in physical properties (moisture content, water activity ( $a_w$ ),  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Hue, Chroma color parameters, particle size), LR content, and bioactive compounds (total anthocyanins (TA), total phenolic content (TPC), and antioxidant capacity (AC) using the DPPH assay). Results showed that the load of LR was in the range 6.79–7.44  $\text{Log}_{10}$  (CFU/mL) cycles after fermentation, lower values were obtained when JSE was added before fermentation. In addition, LR remains after drying in fermented samples but decrease about 1  $\text{Log}_{10}$  (CFU/mL) cycle. LR was 4.46  $\text{Log}_{10}$  (CFU/mL) in the fermented skimmed milk-*J. spicigera* extract powder. All powders had  $a_w$  and moisture content below 0.295 and 6.51%, respectively. Color of powders depended on the moment of addition of JSE and fermentation. Powders from fermented milk were pale brownish/orange/red (Hue = 44.91–59.7) and unfermented and *J. spicigera* extract-maltodextrin solution (12% w/v) powders were purple (Hue = 314.52–326.68). Higher particle sizes (52.3–104.7  $\mu\text{m}$ ) were obtained with whole milk fermented and unfermented powders. On the contrary, skimmed milk and JSE without milk protein had values in the range 15.56–44.0  $\mu\text{m}$ . TPC in powders were higher (16.96–33.81 mg GAE/g powder db) compared with TA (0.27–0.64 mg Peonidin-3,5-diglucoside/g powder db). TPC increased with fermentation and remain after spray drying. The AC and TPCs were highly correlated and had antioxidant capacity of 10.18 mg TE/g powder db. The principal component analysis showed that the type of milk and fermentation separate the powders in four groups, depending on their physical and antioxidant properties. Encapsulated pigments could be used in formulations in the food industry to increase bioactive compounds and pigments in foods.

1. Introduction

Color is one of the most important sensory aspects in foods; this can influence the consumers decision and preference for their consumption. During processing for food preservation, natural pigments are easily destroyed; consequently, the color could be altered (Coulzate and Blackburn, 2018), faded or totally lost. Therefore, the development of natural or artificial colorants becomes relevant in the food industry. Different pigments from important natural sources have been used for foods since they stand out for their functional properties (Lima et al., 2019; Sari et al., 2019). Among the most natural pigments used are anthocyanins. They are responsible for the color of distinct parts of

plants (housed in the vacuoles) such as flowers, leaves, stems and seeds (Horbowicz et al., 2008; Kallam et al., 2017). Anthocyanins are soluble in polar solvents; moreover, thanks to the double bonds in their multiple aromatic rings, they may exhibit antioxidant, anticancer, antimicrobial properties, among others (Giuliani et al., 2016; Sari et al., 2019; Zhang et al., 2019).

Various natural sources (parts of plants) have been used for the extraction, encapsulation and addition of anthocyanins for coloring foods (Jiménez-González and Guerrero-Beltrán, 2021). However, the pigments from *Justicia spicigera* (a shrub) have been studied by few researchers. The *J. spicigera* plant is native to Mexico and has been used for dyeing fabrics (Baquero-Peña and Guerrero-Beltrán, 2017;

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [angel.guerrero@udlap.mx](mailto:angel.guerrero@udlap.mx), [joseangel150@hotmail.com](mailto:joseangel150@hotmail.com) (J.Á. Guerrero-Beltrán).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10733>

Received 11 April 2022; Received in revised form 18 June 2022; Accepted 16 September 2022

2405-8440/© 2022 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## **Deep eutectic solvents: a promising technique to anthocyanin extraction for food coloring agents**

Oscar Jiménez-González, Nelly Ramirez-Corona and José Á. Guerrero-Beltrán \*

\*Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Americas Puebla, Ex Hda. Sta. Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla, Mexico

### **Abstract**

The extraction of natural pigments for food applications have increased by consumers and the food industry due to multiple health benefits and applications. New generations impulse changes to implement and investigate new types of solvents as an alternative to conventional organic solvents. Recently, deep eutectic solvents (DES) gain popularity in many fields, because of their advantages over organic solvents. DES are biodegradables, produced with natural compounds, safe for use, ecologically friendly, and obtained relatively at low cost. For the extraction of anthocyanins, few works have been reported. This review is focused on describing how the physicochemical characteristics of different types of DES affect the extraction of anthocyanins as well as the variables involved during extraction processes affect the obtained yield and their stability.

**Keywords:** Deep eutectic solvents (DES), anthocyanins, physicochemical characteristics, process variables.



## Vacuum impregnation on apples with grape juice concentrate: Effects of pressure, processing time, and juice concentration

Julio E. González-Pérez, Oscar Jiménez-González, Nelly Ramírez-Corona, José A. Guerrero-Beltrán, Aurelio López-Malo\*

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex hacienda de Santa Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, Mexico

### ARTICLE INFO

Keywords:  
Antioxidants  
Bioactive compounds  
Box-Behnken design  
Image processing  
Tissue staining

### ABSTRACT

Apple cubes were subjected to vacuum impregnation using grape juice concentrate. The effect of pressure reduction (VP = 100–500 mmHg), immersion time ( $t$  = 10–30 min), and concentration of grape juice (C = 40–60° Brix) on impregnation parameters were evaluated using response surface methodology. Second-order polynomial equations were developed ( $R^2 > 0.895$ ) to describe the behavior of water loss, total soluble solids,  $L^*$ ,  $a^*$ , Hue, total color difference, the color of impregnated/treated areas ( $A_U/A_{CP}$ ), antioxidant activity, total monomeric anthocyanin, and dimensionless volume ( $V/V_0$ ) in the impregnated product. VP had a significant ( $p \leq 0.05$ ) effect on mass transfer parameters, color parameters,  $A_U/A_{CP}$ , and bioactive compounds. However, at 60° Brix and 500 mmHg, the lower  $V/V_0$  values were reached due to cell disruption. Therefore, it is recommended to use a VP = 500 mmHg and  $t$  less than 20 min to significantly impregnate compounds and obtain a product without considerable morphometric modification.

### 1. Introduction

The consumption of grape juice concentrate has demonstrated positive health effects due to some components (Salehi, 2020). The antioxidants and phenolic compounds present in grape juice concentrate have been studied to decrease the risk of cardiovascular diseases (hypertension and hypercholesterolemia) and male infertility (Dohadwala & Vita, 2009; Lamas, Gollücke, & Dolder, 2015). In addition, the high content of glucose (> 50 g/100 g) and fructose (> 41 g/100 g) is one of the reasons why these juices have been used as a substitute for sucrose solutions (Chambi, Lima, & Schmidt, 2016; Trad, Renard, & Harbi, 2021).

Solutes impregnation is a typical process used to increase the composition of a determinate compound or mixture of components in a food matrix to develop a functional food (Bellary & Rastogi, 2016; Mújica-Paz, Valdez-Fragoso, López-Malo, Palou, & Welti-Chanes, 2003a). For example, natural fruit and vegetable juice concentrates have been impregnated to solid fruits to provide bioactive compounds and generate products with high nutritional value quality (Lech, Michalska, Wojdyto, Nowicka, & Figiel, 2018; Peng et al., 2019). In addition, some authors have used the impregnation procedure to

incorporate bioactive compounds in food products to modify their color. For example, they have incorporated anthocyanins of kokum fruit (*Garcinia indica*) (Adsare et al., 2016), blackberry (*Rubus fruticosus* L.) (Grajales-Lagunes et al., 2019), or black carrot (*Daucus carota*) (Yilmaz & Ersus Bilek, 2018).

One of the main limitations of using food impregnation as pretreatment before thermal drying is the long time required (> 12 h) to reduce the product's water activity (Assis, Morais, & Morais, 2017); besides, the mass transfer process does not occur homogeneously throughout the product. Some authors have reported a higher concentration of the osmotic solution in the external part of the product and higher moisture content in the internal part when applying the osmotic procedure (Sette, Franceschinis, Schebor, & Salvatori, 2017). Some limitations of having a high solutes content on the external part of the product include high resistance for the mass transfer and a lower rate through the impregnation (González-Pérez, Ramírez-Corona, & López-Malo, 2021). Additionally, the solutes on the product surface can crystallize or be caramelized when the product is exposed to thermal treatments for moisture reduction (González-Pérez et al., 2019; Sette et al., 2017).

The impregnation of solutes under vacuum conditions is an alternative for homogenizing the solutes in a food matrix. Under vacuum, the

\* Corresponding author.

E-mail address: [aurelio.lopezm@udlap.mx](mailto:aurelio.lopezm@udlap.mx) (A. López-Malo).

<https://doi.org/10.1016/j.iffset.2022.102981>


Received 31 October 2021; Received in revised form 9 February 2022; Accepted 16 March 2022

Available online 22 March 2022

1466-8564/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 7.2. Evidencias de participación en congresos






**DISEÑO DE MEZCLAS CON EXTRACTOS ACUOSOS DE PLANTAS PARA LA INHIBICIÓN DE**

*Salmonella typhi*

González-Pérez, J.E., Jiménez-González, O., Reyes-Jurado, F., Ramírez-Corona, N.



---

### Introducción

Las plantas medicinales son una de las fuentes más importantes en el tratamiento de enfermedades ya que presentan diferentes propiedades antibacterianas y no tienen efectos adversos contra el ser humano [1], pues contienen diferentes compuestos como ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, vitaminas y terpeno los cuales pueden o tienen efecto en la inhibición de microorganismos [2]. Dentro de estas plantas se encuentra a la manzanilla, que ha reportado tener un efecto en el tratamiento de distintas enfermedades [4]. La jamaica, además de sus propiedades antioxidantes, diferentes estudios demuestran la inhibición de microorganismos [3].

Por otro lado, *Salmonella spp.*, ha sido asociada con el padecimiento de enfermedades digestivas, ya que se le puede encontrar en diferentes alimentos.

Debido a la resistencia de los microorganismos, el uso de sólo un remedio natural no resulta eficiente en el tratamiento de enfermedades, por lo cual, el uso de un diseño de mezclas para la determinación de las concentraciones idóneas resulta indispensable. El presente trabajo presenta el uso de sistemas acuosos a base de jamaica, manzanilla, y hojas de limón, para la inhibición de *Salmonella typhi*. La evaluación de las mezclas se llevó a cabo mediante un diseño simplex centroide, agregando los diferentes extractos en agar nutritivo, para la obtención de estas las plantas se hirvieron durante 30 minutos y filtraron. La adición de extractos de jamaica inhibió el crecimiento en su totalidad, a diferencia de manzanilla y hojas de limón, en los puntos axiales, la concentración de los extractos mostró que jamaica inhibía desde un 20%, la combinación de los extractos se vio beneficiada sobre todo por la jamaica. Los modelos obtenidos presentaron un buen ajuste a los datos experimentales.

### Objetivo

Hacer uso de diferentes extractos acuosos de jamaica, manzanilla y hojas de limón para la inhibición de *Salmonella typhi* utilizando un diseño de mezclas simplex centroide

### Análisis estadístico

Hacer uso de diferentes extractos acuosos de jamaica, manzanilla y hojas de limón para la inhibición de *Salmonella typhi* utilizando un diseño de mezclas simplex centroide que eran significativos con un 95% de confianza para las tres concentraciones de la sustitución, todos los experimentos se realizaron por triplicado

### Metodología

#### Preparación de los extractos

120 g de Manzanilla  
20 g de Hojas de limón  
50 g de Flores de jamaica

500 mL de agua  
Manteniendo en ebullición durante 30 minutos.

#### Mezcla con el medio de cultivo

Se agregaron diferentes proporciones de los extractos sustituyendo el agua requerida para la preparación del medio, siguiendo el diseño de mezclas (Tabla 1) y diferentes porcentajes de sustitución (20, 40 y 80%)

#### Siembrado de S. typhi

Se depositaron 50µL sobre al superficie del agar usando un sembrador en espiral. El recuento se realizó mediante un contador automático.

### Resultados y discusión

La inhibición de *S. typhi* se debía principalmente a los extractos de jamaica, desde 20% se observó la completa inhibición, reduciendo alrededor de 9.5 Log UFC/mL ciclos logarítmicos en comparación con el blanco. Por otro lado, el efecto mas bajo lo tuvo la adición de los extractos de hojas de limón, ya que el punto axial que corresponde a la adición únicamente de este extracto y no a la mezcla redujo medio ciclo logarítmico incluso en concentraciones de 80% de sustitución.

Se obtuvieron los modelos que describían el comportamiento de los datos experimentales los cuales se muestran en la Tabla 2. El ajuste de los modelos fue arriba del 76%.

La interacción triple (limón-manzanilla-jamaica) así como la interacción doble (limón-manzanilla) en las tres concentraciones no fueron significativas (P>0.05).

### Resultados y discusión (cont.)

Las graficas de contorno (Figura 1 a-c), muestran el efecto de cada uno de los factores en cada modelo, la jamaica inhibió el crecimiento de bacterias en todas las concentraciones y el efecto de inhibición se hace

### Tabla 1. Diseño de mezclas

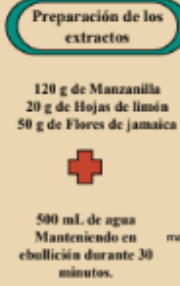
Experimento	Limón (mL)	Manzanilla (mL)	Jamaica (mL)
1	1 (20)	0 (0)	0 (0)
2	0 (0)	1 (20)	0 (0)
3	0 (0)	0 (0)	1 (20)
4	1/2 (10)	1/2 (10)	0 (0)
5	0 (0)	1/2 (10)	1/2 (10)
6	1/2 (10)	0 (0)	1/2 (10)
7	1/6 (3.33)	2/3 (13.33)	1/6 (3.33)
8	1/6 (3.33)	1/6 (3.33)	2/3 (13.33)
9	2/3 (13.33)	1/6 (3.33)	1/6 (3.33)
10	1/3 (6.67)	1/3 (6.67)	1/3 (6.67)

### Tabla 2. Coeficientes obtenidos para el modelo cubico especial del diseño experimental

Coeficientes	Concentración		
	Sustitución al 20%	Sustitución al 40%	Sustitución al 80%
βa (limón)	9.47	9.33	7.34
βb (manzanilla)	7.26	7.56	7.44
βc (jamaica)	0.66	0.12	1.15
βac	n.r.	-13.04	-21.98
βbc	-20.96	-16.03	-22.21
R² (%)	79.13	76.31	78.04

n.r. no reportado debido a que se eliminó del modelo

### Preparación de los extractos



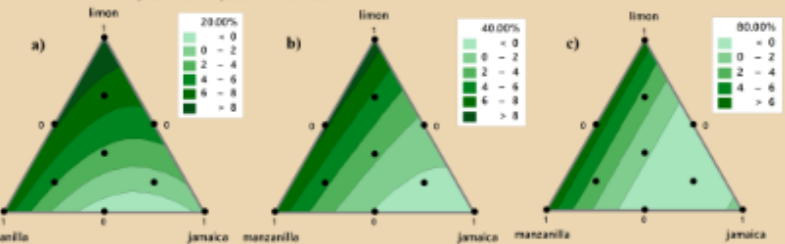


Figura 1. Contornos obtenidos para la inhibición de *Salmonella typhi* después de la adición de los extractos 80% A) limón, B) manzanilla y C) jamaica.

### Bibliografía

1. Alirol A, Lillio A. Antibacterial activity of various leaf extracts of medicinal aromatic plants against drug resistant pathogens. *Bacteriol Rev*. 2012; 76(2): 193-200.

2. Eshelbati I, Eshelbati L, Subhani I. (2010). Antibacterial activity of medicinal plants. *Phytotherapy*.

3. Wang Y, Wang Y, Chen Y, et al. (2012). Assessment and antibacterial activities of 10 medicinal plants against *Salmonella typhi*. *Journal of Food Safety*. 33(2): 205-212.

4. Sánchez G, Domínguez, Juan Gutiérrez J, Sierra M, Galaviz C (2016). Antibacterial activity of five medicinal plants in vitro against enterobacterial and aerobic pathogens. *Food Bioprocess Technology*. 2018; 31(10): 2032-2042.

5. Eshelbati I, Subhani I, Eshelbati L. (2010). Antibacterial activity of medicinal plants against *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. *Journal of Food Safety*. 31(10): 2032-2042.

6. Wang Y, Wang Y, Chen Y, et al. (2012). Assessment and antibacterial activities of 10 medicinal plants against *Salmonella typhi*. *Journal of Food Safety*. 33(2): 205-212.

### Información de Contacto

Para más información por favor contactar:

Juan Gutiérrez-González  
Correo: jgutierrez@udlap.mx  
Teléfono: (52 55) 5622 1010 ext. 4114  
www.amidiq.udlap.mx

Fátima Reyes Jurado  
Correo: freyes@udlap.mx  
Teléfono: (52 55) 5622 1010 ext. 4114  
www.amidiq.udlap.mx

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex-Hacienda San Clemente Mar 500, San Andrés Cholula, Puebla, C.P. 76816, México.



**Cuarto Congreso Internacional Digital de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos**

**La Red de Investigación, Innovación y Desarrollo Tecnológico en Alimentos Funcionales y Nutraceuticos**  
otorga el presente

# RECONOCIMIENTO

a:

**Jiménez-González O, Reyes-Jurado F, González-Pérez JE**

Por su valiosa participación en la modalidad de **presentación de cartel** dentro de la categoría "Aprovechamiento de Subproductos", con el tema **Inhibición de *Salmonella typhi* utilizando extractos acuosos de semilla de *Renalmia alpinia*** en el marco del 4º Congreso Internacional Digital en Alimentos Funcionales y Nutraceuticos: 2020 Rumbo al 2021, realizado del 10 al 12 de junio del 2020


Comité técnico/científico

  
Abraham Wall Medrano

  
Liliana Santos Zea


  
Adrián Hernández Mendoza





**EXTRACTOS DE SEMILLA DE *RENEALMIA ALPINIA* CONTRA EL CRECIMIENTO BACTERIANO, INHIBICIÓN DE *SALMONELLA TYPHI***

*Jiménez-González, O.ª, González-Pérez, J.E.ª, Reyes-Jurado, F.ª*  
 \*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir S/N. San Andrés Cholula, Puebla, C.P. 72810, México. fatima.reyes@udlap.mx



---

### Resumen

La mayoría de los agentes antimicrobianos son de origen sintético, los cuales presentan peligros a la salud humana, por lo cual, la industria se ha inclinado al uso de aditivos para el control microbiano de origen natural. En este trabajo, se investigó el uso de extractos de semillas de *Renalmia alpina*, contra el crecimiento de *Salmonella typhi*. Los extractos fueron adicionados al agar de cultivo en diferentes concentraciones, encontrando que concentraciones 40% inhibieron el crecimiento de *S. typhi*, se encontró una reducción de  $8.58 \pm 0.01$  hasta  $5.23 \pm 1.34$  Log UFC/mL, mientras que no se encontraron diferencias significativas con el uso de 5% y 20% de extracto de semilla de *R. alpina*.

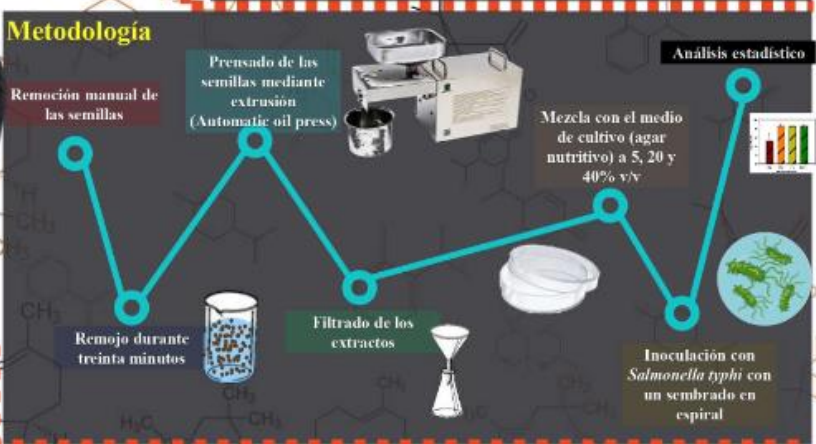
### Introducción

Los recursos naturales en zonas de bajos recursos son bastos [1], sin embargo, muchos de estos son desaprovechados, por otro lado se ha empleado el uso de diferentes extractos como conservadores naturales debido a su inherente demanda [2], extractos de hierbas, especias o aceites esenciales [3].

*Salmonella typhi* se ve implicada en enfermedades fiebre tifoidea, septicemia o gastroenteritis [4], además, debido a que los microorganismos se han vuelto cada vez más resistentes a diferentes medicamentos [5], la búsqueda de diferentes compuestos para la inhibición de *S. typhi* ha aumentado.

*Renalmia alpina* (Rottb.) Mass (Zingiberaceae), su consumo es local y limitado a la pulpa, sin embargo, las semillas son desechadas después de la remoción de la pulpa, no obstante, debido a su aroma pungente e intenso, podría contener múltiples compuestos antibacterianos, ya que se ha estudiado extractos etanólicos de los rizomas de la planta contra el crecimiento de *Leishmania amazonensis* [6].

### Metodología

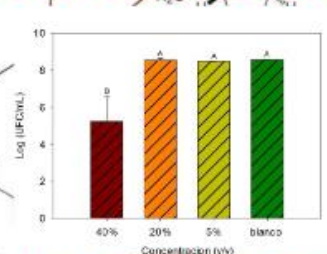


### Resultados

En la Figura 1, se observa la apariencia del fruto, de esta el 22.74% aproximadamente esta constituido por semillas, las cuales son desechadas, se han reportado muy pocos usos para la semilla, dentro de estos destaca la extracción de aceite de las semillas usado para fritura, como remedio medicinal contra náuseas y vómitos [7]. Por otro lado, el uso de diferentes extractos ha sido propuesto como agentes antimicrobianos, como semillas de toronja [8] y papaya [9], los resultados (Figura 2) mostraron una reducción de más de 3 Log (UFC/mL), con el uso del extracto al 40%, sin embargo, no fueron significativos para las otras dos concentraciones. Esta reducción podría atribuirse a la concentración de compuestos antimicrobianos en el extracto, a que fue la más alta. Gomez-Betancur et al. [10] reportan que uno de los principales constituyentes de aceite esencial de *R. alpina* es  $\alpha$ -Pinoeno, el cual se ha comprobado tener un efecto antimicrobiano [11].

### Conclusiones

Este estudio demuestra la efectividad de extractos de *R alpina* para la inhibición de *S. typhi*, por lo cual, debido a su desaprovechamiento, podría ser una fuente importante de antimicrobianos para la industria alimenticia, no obstante, se requieren más estudios acerca de la composición exacta de las semillas, así como métodos de extracción del aceite para evaluar la completa inhibición de los microorganismos.



**Figura 2. Crecimiento microbiano después de la adición de extractos de semilla de *Renalmia alpina***

### Referencias

1. Parra, A., C. López, T. Acosta, M. Quiroz, J. C. & Bergam, D. (2022). Evaluation of the inhibitory effect of extracts from leaves of *Passiflora ligularis* Roth. (Passifloraceae) on the growth of *Bacteroides fragilis* (Bacteroidetes). *Bacteriologia*, 32, 245-254.
2. Lopez, B.E., Valenzuela, V.F., Durazo, C.F., Meléndez-Lemus, A., Botello, F. S. (2019). Application of kinetic mathematical for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17, 597-608.
3. Hossain, S.S., Chiba, N., Lambert, E.S., Truen, M.T., & Debnis, D.A. (2015). Neurogenic antimicrobial activity of galangal (*Alpinia galanga*, Zingiberaceae) and lemon grass (*Cymbopogon nardus*, Poaceae). *Journal of Food and Agriculture*, 91, 171-180.
4. Sherif, A.T., Fawzy, H. & Nassef, H. (2016). Study of Antimicrobial Activity of Black Cumin...
5. Seta (2019). *Salmonella typhi*. *Journal of Medical Microbiology*, 1, 1-14.
6. Corra, M.M. (2009). Plant products as natural preservatives. *Food Microbiology*, 22, 364-372.
7. Ghosh, S., Ghosh, S., Saha, D., Jaisankar, A., Vaidyanathan, A., & Ghosh, S. (2019). Medicinal plants from the Himalayas for the treatment of the bacteriological and parasitological problems of animals and man. *Journal of Ethnopharmacology*, 230, 413-422.
8. Miao, M.J. (2012). *Renalmia alpina* (Rottb.) Mass. (Zingiberaceae) as a natural preservative. *Journal of Food Safety and Quality Assurance*, 10, 110-121.
9. Corra, M.M., & Baccan, M. (2008). Antimicrobial activity of essential and total phenolic extract. *Acta Horticulturae*, 54, 21-250.
10. Corra, F.J., Serrano, S., Pineda, F., Mendi, H. (2016). Antimicrobial activity of essential and total phenolic extract from *Renalmia alpina*. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 31, 28-37.
11. Ochoa-Ornelas, L., Maguiness, D., Owens, L.L., Miao, S., Jones, J.R. (2019). Antimicrobial activity of the leaves, stem, rhizome and rhizomatous tubers of *Renalmia alpina* (Rottb.) Mass. *Journal of Food Protection*.
12. de Silva, A.L.B., Lopez, F.M., de Almeida, M.M.H., Costa, L.M.M., Almeida, L.N., & Almeida, B.S. (2012). Biological activities of *Renalmia alpina* (Zingiberaceae). *Journal of Food Safety and Quality Assurance*, 10, 408-417.





**e-Latin Food 2020**  
9th Food Science,  
Biotechnology & Safety Congress  
11-13 NOVEMBER

**MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE  
AWARDS THE PRESENT CERTIFICATE TO:**

Jiménez-González, O., González-Pérez, J.E., López-Malo, A.




for the Poster Presentation of the work entitled Spend coffee ground agglomerations as size enlargement with future applications during the *e-Latin Food 2020. 9th Food Science, Biotechnology and Safety Congress*

Dr. Nicolas Oscar Soto Cruz  
President of AMECA

Dr. Rosa Maria Rodríguez Jasso  
President of the Organizing  
Committee

Dr. Ana Verónica Charles Rodríguez  
President of the Scientific Committee



Spend coffee ground agglomerations as size enlargement with future applications

Jiménez-González, O.<sup>1</sup>, González-Pérez, J.E.<sup>1</sup> & López-Malo, A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda de Santa Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México. \*Email: Aurelio.lopezm@udlap.mx

**Introduction**

The coffee industry generates a lot of waste. The spend coffee grounds (SCG) disposition into the nature affect the ecosystem due to the high amount of caffeine and polyphenols impeding its use as compost [1-3]. SCG could be used as source for enzyme [4] production through solid-state fermentation, but small particle size of SCG could reduce the microorganism development [5].

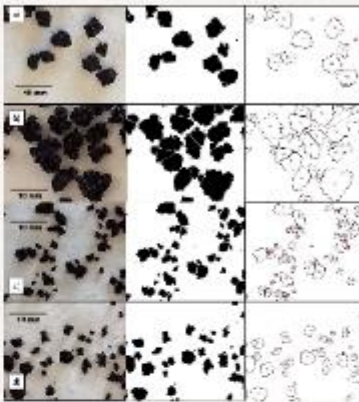
**Objective**

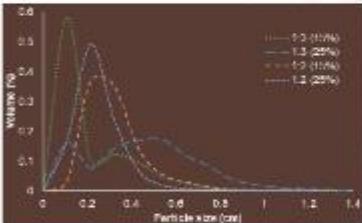
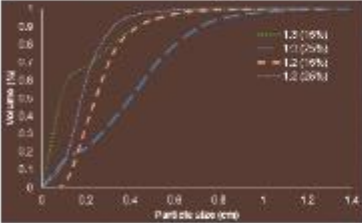
The aim of this work was to use the fluidized bed as agglomeration method to increase particle size for future applications in the enzyme production.

**Materials and methods**

Local SCG was dried (40°C/40h), particle size 125-250 µm. Agglomeration process was made with 50g SCG and adding arabic gum (AG) (15 or 25% w/v) and sodium alginate (0.5%) at 2:1, 3:1, ratio. SCG was kept 30min/50°C in a fluidized bed.

Particle size was measured with ImageJ software, data was used to calculate  $D_{3,2}$  (average-particle-area) and  $D_{4,3}$  (average-particle-volume), bulk and tapped density were used as an estimation of porosity.



**Results and discussion**

Table 1 show particle size parameters. Particle size ranged between 0.12-1.307mm. Values were higher with 25% AG/1:3 ratio, this conditions also exhibit higher values of  $D_{3,2}$  and  $D_{4,3}$ . On the contrary, 15% AG/1:3 ratio present the lowest values of the four formulations. Both formulations shows present a bimodal behaviour (Fig 1) due to the agglomerated particles. The rest of the formulations present a unimodal behaviour but high distribution sizes. Bulk density did not show significant differences ( $p>0.05$ ). On the other hand, tapped density was lower with in all samples except 25% 1:2. Relation between density and porosity results of the air in the agglomerate, this could encourage

the microbial growth due to the water holding capacity or the water in the monolayer.

**Table 1.** Size parameters of agglomerate coffee

Sample	Min size	Max size	d10	d50	d90	Span	D[3,2]	D[4,3]
1:3 (15%)	0.012	1.119	0.018	0.092	0.426	4.432	0.520	0.632
1:3 (25%)	0.011	1.307	0.067	0.399	0.723	1.643	0.655	0.744
1:2 (15%)	0.047	1.179	0.127	0.245	0.438	1.268	0.414	0.511
1:2 (25%)	0.044	0.766	0.064	0.179	0.325	1.457	0.315	0.388

Each value was obtained with 1200 particle analysis

**Table 2.** physical characteristic of coffee agglomerate

Sample	Density	
	Bulk ( $g/cm^3$ )	Compact ( $g/cm^3$ )
1:3 (15%)	0.343±0.035 <sup>a</sup>	0.356±0.037 <sup>a</sup>
1:3 (25%)	0.369±0.011 <sup>a</sup>	0.377±0.003 <sup>ab</sup>
1:2 (15%)	0.313±0.019 <sup>a</sup>	0.358±0.013 <sup>b</sup>
1:2 (25%)	0.344±0.035 <sup>a</sup>	0.460±0.014 <sup>a</sup>

Mean ± standard deviation (n=3); different letters in the same column indicate significant differences between samples (P<0.05)

**References**

1. Murthy, P.S., & Naidu, M.M. (2012a). Sustainable management of coffee industry by products and value addition- a review. *Resour Conserv Recy*, 66, 45-58.
2. Alves, R. C., Rodriguez, F., Nunes, M. A., Vinha, A. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2017). State of the art in coffee processing by-products. In C. M. Galanakis (Ed.), *Handbook of coffee processing by-products* (pp.1-26). Cambridge: Academic Press.
3. Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S. (2018). Bio-refinery approach for spent coffee grounds valorization. *Bioresour Technol*. 247, 1077-1084.
4. Murthy, P.S., Naidu, M.M., Srinivas, P. (2009). Production of  $\alpha$ -amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 84, 1246-1249.
5. Soccol, C.R., Ludema, P.S., & Vandenberghe. (2003). Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. *Biochemistry Engineering*. 13, 205-218.



e-Latin  
Food 2020

9th Food Science,  
Biotechnology & Safety Congress  
11-13 NOVEMBER

**MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE  
AWARDS THE PRESENT CERTIFICATE TO:**




Jiménez-González, O., González-Pérez, J.E., Guerrero-Beltrán, J.A

for the Poster Presentation of the work entitled Sensory evaluation of Mexican salsas prepared with Jalapeño, Poblano or Serrano var. Tampiqueño chili peppers during the *e-Latin Food 2020. 9th Food Science, Biotechnology and Safety Congress*

Dr. Nicolas Oscar Soto Cruz  
President of AMECA

Dr. Rosa Maria Rodríguez Jasso  
President of the Organizing  
Committee

Dr. Ana Verónica Charles Rodríguez  
President of the Scientific Committee

## Sensory evaluation of Mexican salsas prepared with Jalapeño, Poblano or Serrano var. Tampiqueño chili peppers

**Jiménez-González, O.<sup>1</sup>, González-Pérez, J.E.<sup>1</sup> & Guerrero-Beltrán, J.A.<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex hacienda de Santa Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México. \*Email: angel.guerrero@udlap.mx

### INTRODUCTION

Mexican *salsas* are a very common side dish or a dressing, which could help to change or improve the flavor of foods. Due to their complexity, derived from the ingredients, Mexican *salsas* have a great acceptability [1-2]. The main ingredients are *chilli* pepper (fresh or dried), garlic, tomato or "tomatillo", salt, and oil (sometimes) [3]. The *chilli* pepper type is an important ingredient to the final flavor, spiciness, color, among other characteristics of the *salsas*.

### OBJECTIVE

The aim of this work was to compare the effect of *chilli* pepper types in the sensory characteristics of three green oil-based *salsas*.

### MATERIALS AND METHODS

Sauces elaboration: all ingredients were sautéed in a pan (10min light green-color surface of *chilli* pepper), cooled down and blended with salt.

Sensory evaluation was performed one day after *salsas* were prepared.

Sauces were topped on "tortilla-chips".

Consumers evaluated appearance, color, aroma, visual texture, flavor, mouthfeel texture acceptability, and general acceptability using a 9-points hedonic scale. Judges also evaluate spiciness ("picante" capsaicin sensation) and the intensity of green color. Color parameters (L\*, a\*, b\*) of *salsas* were measured using a colorimeter.

### RESULTS AND DISCUSSION

The Poblano salsa had the lowest L\* (41.33±2.4, lightness) and b\* (-3.99±0.21, greenness) color values (Fig 1 and Table 2). The serrano and jalapeño *salsas* presented differences only in a\* values (p<0.05) being higher in the jalapeño salsa.




Fig. 1 Final sauces

Sample	L*	a*	b*	Hue	Chroma
Poblano	41.33±2.4 <sup>b</sup>	-3.99±0.21 <sup>c</sup>	32.79±2.19 <sup>b</sup>	96.95±0.33 <sup>c</sup>	33.03±2.19 <sup>b</sup>
Tampiqueño	48.86±1.53 <sup>a</sup>	-4.85±0.26 <sup>b</sup>	24.36±1.29 <sup>b</sup>	101.25±0.02 <sup>c</sup>	24.84±1.32 <sup>c</sup>
Jalapeño	47.63±0.98 <sup>a</sup>	-8.09±0.11 <sup>a</sup>	25.64±0.48 <sup>b</sup>	107.51±0.13 <sup>c</sup>	26.88±0.49 <sup>b</sup>


Means±SD, n=3. Means with different letter in the same column indicate significant difference between sample by Tukey's test (p<0.05).

Sample	Chile-like Flavour	Color intensity
Poblano	4.66±2.89 <sup>b</sup>	7.21±2.21 <sup>a</sup>
Tampiqueño	7.42±2.19 <sup>a</sup>	3.42±1.88 <sup>c</sup>
Jalapeño	7.41±1.71 <sup>b</sup>	4.88±2.14 <sup>b</sup>

Means±SD, n=3. Means with different letter in the same column indicate significant difference between sample by Tukey's test (p<0.05).

Regarding the sensory test, the Poblano salsa had the lower values in all parameters (Fig 2). The Poblano salsa had the lowest spiciness, compared with the other two *salsas* (Table 2). The Poblano salsa presented the higher values in green color (Table 2).

Finally, the main factors that affected general acceptability were appearance, color, aroma, and flavor.



### CONCLUSIONS

All formulations were very well accepted by judges, especially, the jalapeño and serrano *salsas*. The *chilli* pepper type affected flavor and color of *salsas*, leading to the judges to prefer one salsa to another.

### ACKNOWLEDGMENTS

Jiménez-González, O., González-Pérez, J.E. acknowledges their postgraduate scholarship from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) and Universidad de las Américas Puebla (UDLAP).

### REFERENCES

- Guzmán, I., & Bosland, P.W. (2017). Sensory properties of *chilli* pepper heat and its importance to food quality and cultural preference. *Appetite*, 117, 186-190.
- Kim, H.J., Chang, S.-J., Kim, K.-O., Niebers, B., Ishii, R., & O'Mahony, M. (2018). A cross-cultural study of acceptability and food pairing for hot *salsas*. *Appetite*, 123, 306-316.
- McKee, L.H., Christoffersen, J., & Birch, M.A. (2001). Quality evaluation of commercial *chilli*-based *salsas*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 18(3), 1-12.

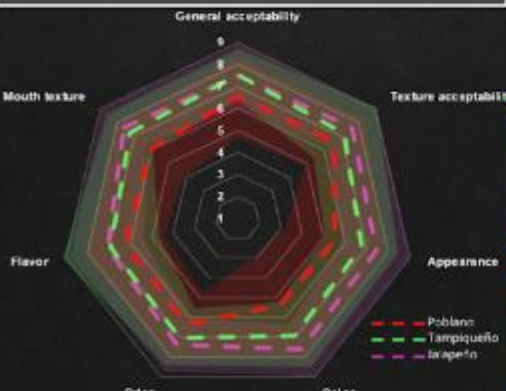


Fig. 2 Sensory profile of sauces with three different *chilli* peppers



e-Latin Food 2020

9th Food Science,  
Biotechnology & Safety Congress  
11-13 NOVEMBER

**MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE  
AWARDS THE PRESENT CERTIFICATE TO:**

González-Pérez, J.E., Jiménez-González, O., López-Malo, A

for the Poster Presentation of the work entitled Effect of temperature and NaCl concentration on quality parameters of spaghetti rehydrated: texture and color characteristics during the e-Latin Food 2020. 9th Food Science, Biotechnology and Safety Congress

Dr. Nicolas Oscar Soto Cruz  
President of AMECA

Dr. Rosa Maria Rodríguez Jasso  
President of the Organizing  
Committee

Dr. Ana Verónica Charles Rodríguez  
President of the Scientific Committee

UDLAP

e-Latin  
Food 2020

## Effect of temperature and NaCl concentration on quality parameters of spaghetti rehydrated: texture and color characteristics

González-Pérez, J.E.<sup>1</sup>, Jiménez-González, O.<sup>1</sup>, & López-Malo, A.<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Ex hacienda de Santa Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México. \*Email: aurelio.lopezm@udlap.mx

### INTRODUCTION

The moisture content of pasta modifies its quality [1]. Water gain can affect stickiness, firmness, swelling capacity, and solid loss from product to cooking water [3,4]. Rehydrated pasta quality is related to the water type, NaCl concentration, water/paste ratio, cooking temperature and draining method [4,5].

### RESULTS AND DISCUSSION

$GA = -0.364 + 0.02006 T + 0.164 [NaCl] - 0.00724T [NaCl]$

$SP = 0.218 - 0.00127 T - 0.167[NaCl] + 0.00124 T [NaCl]$

$\Delta E = 19.95 + 0.0645 T + 15.51 [NaCl] - 0.2280 T [NaCl]$

**Fig. 1.** Surface contours for the parameters water gain (GA), solids loss (SP) and color difference (ΔE).

The analysis revealed that an increase in temperature and sodium chloride concentration generates a higher ( $p < 0.05$ ) water gain. On the other hand, the presence of NaCl and the decrease in temperature reduces ( $p < 0.05$ ) the loss of solids. The smallest color difference occurred with the 98°C treatment and 1g NaCl/L solution (19.45±0.035).

### OBJETIVE

The aim of this work was to evaluate the effect of temperature and salt concentration on mass transfer coefficients during paste rehydration and to evaluate product quality in terms of texture and color.

### MATERIALS AND METHODS

Diameter=1.90±0.03mm  
 Long=80±0.2mm  
 $L_c=61.78±0.16$   
 $\sigma_c=4.24±0.1$   
 $b_0=51.81±0.22$

**Table 1.** 2<sup>2</sup>-factorial design.

Factor(s)	Level(s)
T=Temperature	65-98 °C
[NaCl]=NaCl concentration	0-1 g/L

10 g<sub>subsample</sub>/g<sub>product</sub>  
 Time 25 min

**Commercial spaghetti**

**Rehydration**

**Water gained**  
 (g water gained/g initial sample)  
 $GA = Y_f \frac{m_f}{m_0}$      $Y_f = \frac{m_f - m_{i,s}}{m_i}$

**Solute lost**  
 (g sample lost / g initial sample)  
 $SP = \frac{m_0 - m_{0,s}}{m_0}$

**Color difference**  
 $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$

**Hardness**  
**Cohesiveness**  
**Adhesiveness**

**Texture Profile Analysis**

**ANOVA, Tukey test (p<0.05)**

**Statistical analysis**

Minitab 19

### CONCLUSIONS

The addition of 1g NaCl to 1L water allowed to decrease the loss of product (solids), increase the hardness and cohesiveness, which implies an improvement in the rehydration process, as well as better textural characteristics.

### ACKNOWLEDGMENTS

Authors González-Pérez and Jiménez-González gratefully acknowledges financial support for their PhD studies from Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and National Council for Science and Technology (CONACyT) of Mexico.

### REFERENCE

[1] Ogawa, T., Adachi, S. (2013). Measurement of moisture profiles in pasta during rehydration based on image processing. *Food Bioprocess Technology*, 7, 1466-1471. doi: 10.1007/s11947-013-1156-y

[2] Balanz, A., Conde, A., Del Nobile, M.A. (2008) Influence of drying temperature on the spaghetti cooking quality. *Journal of Food Engineering*, 76, 341-347. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.05.030

[3] Rosenbater, K. A., Evans, A. D. (2018). Estuion processing of pasta and other products. *Kent's Technology of Cereals*, 687-698. doi:10.1016/b978-0-08-100529-3.00010

[4] Ogawa, T., Adachi, S. (2015). Moisture distribution and texture of spaghetti rehydrated under different conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80, 769-773. doi:10.1080/09680445.2015.1116930

[5] Zeppa, G., Rolfo, L., Ghirardo, D. (2010). Suver on overcooking resistance of Italian and Tunisian spaghetti. *Journal of Food Quality*, 33, 88-111. doi: 10.1111/j.1745-4507.2009.01270.x



La Academia Mexicana de Investigación y Docencia  
en Ingeniería Química (AMIDIQ)

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

a:

Oscar Jiménez-González, Scarlette L. Recio-Cázares, Julio E. González-Pérez, María Teresa Jiménez-Munguía

**Por la presentación del trabajo en modalidad cartel:**

**EFFECTO DE LA FORMULACIÓN EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y DE  
INSTANTANEIZACIÓN DE LECHE EN POLVO**

  
Dra. María del Rosario Rodríguez Rosado  
PRESIDENTA DEL AMIDIQ Y DEL COMITÉ ORGANIZADOR

  
Dr. Tomás Alberto García  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO

ID: 287

Evento virtual del 08 al 11 de septiembre de 2021



## EFFECTO DE LA FORMULACION EN LAS PROPIEDADES FISICAS Y DE INSTANTANEIZACION DE LECHE EN POLVO

Jiménez-González O.<sup>a</sup>, Recio-Cázarez S. L.<sup>a</sup>, González-Pérez J. E.<sup>a</sup>, Jiménez-Manguía M. T.<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. \*mariajimenez@udlap.mx

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de la composición de seis leches en polvo comerciales mediante análisis de componentes principales en propiedades físicas y de instantaneización. Ambas propiedades se relacionan con la composición de la leche. Se observaron tres grupos, i) alta cantidad de proteína y grasa, ii) baja cantidad de proteína y grasa pero alta cantidad de carbohidratos, iii) fibra añadida y baja cantidad de grasa; y dos componentes principales. Altos contenidos de carbohidratos afectan el color ( $p < 0.05$ ). Altos contenidos de grasa y proteína afectan a las propiedades de instantaneización haciendo más lenta la reconstitución, influenciado por el tamaño de partícula y la capacidad de aglomeración.

### INTRODUCCION

La leche en polvo es usada para la elaboración de diferentes productos [1]. No obstante, su formulación, junto con el proceso de deshidratación y las condiciones de almacenamiento impactarán en las propiedades físicas (fluidéz, humectabilidad, tamaño de partícula y microestructura), y de instantaneización (solubilidad, emulsificación, estabilidad térmica, gelificación, viscosidad y capacidad de retención de agua) [2]. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes propiedades físicas y de instantaneización, de seis sistemas de leche en polvo con diferente composición química.

### MÉTODOLÓGIA



- Densidad aparente ( $D_{Aparente}$ ) y compacta ( $D_{Compacta}$ )
- Índice de Carr ( $IC$ ), Coeficiente de Hausner ( $Hc$ ) y Ángulo de reposo ( $\theta$  Reposo))
- Color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Hue, Cromo, IA: amarilleamiento e IB: blancura)
- Tamaño de partícula
- Humectabilidad
- Inmersibilidad
- Análisis de componentes principales

Tabla 1. Composición básica de las diferentes leches.\*

Parámetro	Leche en polvo					
	ALC	ALD	STM	STDD	CA	CAD
Proteína (g)	25.8	27.7	19.0	15.5	12.0	14.2
Grasas totales (g/100 g)	25.8	16.7	11.5	9.0	12.0	19.5
Carbohidratos (g/100 g)	38.3	44.3	56.0	46.0	61.0	56.6
Fibra dietética (g/100 g)	0.0	0.0	0.0	15.5	7.0	0.0

\*Valores reportados en etiqueta; n.r., no reportado.

Tabla 2. Valores de densidad aparente y compacta de las diferentes leches en polvo.

Muestra	Densidad aparente (g/mL)	Densidad compacta (g/mL)
ALC	0.422 ± 0.001a	0.567 ± 0.003a
ALD	0.406 ± 0.004ab	0.562 ± 0.005a
STM	0.415 ± 0.0250a	0.572 ± 0.011a
STDD	0.360 ± 0.005bc	0.505 ± 0.07b
CA	0.422 ± 0.007ab	0.547 ± 0.006a
CAD	0.395 ± 0.008c	0.474 ± 0.032ab

Tabla 3. Propiedades de fluidización.

Muestra	Índice de Carr	Cociente de Hausner	Ángulo de reposo
ALC	0.255 ± 0.005 ab	1.343 ± 0.014 ab	34.1 ± 2.0 e
ALD	0.278 ± 0.014 a	1.385 ± 0.027 a	31.1 ± 0.9 e
STM	0.276 ± 0.031 a	1.383 ± 0.059 a	40.3 ± 1.1 d
STDD	0.287 ± 0.020 a	1.403 ± 0.039 a	37.5 ± 0.5 c
CA	0.229 ± 0.022 ab	1.298 ± 0.036 ab	54.3 ± 1.1 a
CAD	0.164 ± 0.041 b	1.197 ± 0.059 b	44.3 ± 1.1 b

### Referencias

- Phosnam, et al "Effect of storage conditions on physicochemical and microstructural properties of skim and whole milk powders". Powder Technology 372 (2020) 394–403.
- Sharma et al. "Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications—A review". Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 11 (2012) 518–528.

Tabla 3. Parámetros de color de las diferentes muestras de leche en polvo.

Muestra	L	a	b	Hue	Croma
ALC	89.5 ± 2.0 a	1.20 ± 0.87ab	8.93 ± 0.60 b	82.15 ± 5.84 ab	9.04 ± 0.51 b
ALD	88.9 ± 2.7 a	2.20 ± 0.35 a	11.03 ± 1.00 ab	78.75 ± 1.01 b	11.25 ± 1.04 a
STM	88.3 ± 1.0 a	0.07 ± 0.45 b	9.23 ± 0.97 b	89.39 ± 2.81 a	9.24 ± 0.96 ab
STDD	82.4 ± 1.7 a	0.53 ± 0.06 ab	12.33 ± 0.21 a	87.52 ± 0.23 ab	12.34 ± 0.21 a
CA	89.1 ± 1.9 a	-0.07 ± 0.49 b	9.63 ± 0.91 b	90.45 ± 2.87 a	9.64 ± 0.91 ab
CAD	87.6 ± 1.1 a	0.20 ± 0.79 b	9.60 ± 0.87 b	89.30 ± 4.87 a	9.62 ± 0.87 ab

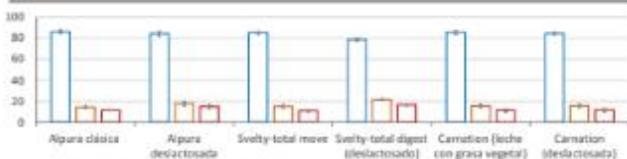


Figura 1. Índices de color calculados para las diferentes muestras, índice de blancura (gráfica superior), índice de amarilleamiento (gráfica del centro) e índice de oscurecimiento (gráfica inferior).

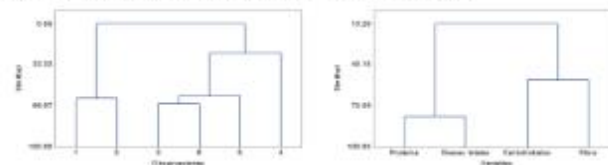


Figura 1. Dendrograma de a) observaciones o tipos de muestra (1=ALC, 2=ALD, 3=STM, 4=STDD, 5=CA, 6=CAD) y b) variables o composición.

Tabla 4. Propiedades de instantaneización.

Muestra	Humectabilidad (seg)		Inmersibilidad (seg)		Disponibilidad (seg)	
	21 °C	36 °C	21 °C	36 °C	21 °C	36 °C
ALC	11.0 ± 1 b	8.3 ± 0.1 a	28.3 ± 1.6 a	21.1 ± 1.6 a	62.5 ± 1.8 a	26.5 ± 1.9 a
ALD	13.6 ± 1.1 a	4.1 ± 0.1 b	83.3 ± 25.1 a	17.4 ± 7.4 b	47.7 ± 1.3 b	20.0 ± 1.9 b
STM	3.6 ± 0.5 c	3.3 ± 0.2 b	5.0 ± 0.1 b	3.4 ± 0.2 c	9.9 ± 0.2 b	5.5 ± 2.1 c
STDD	1.0 ± 0.1 d	0.8 ± 0.1 c	1.2 ± 0.2 b	0.8 ± 0.1 c	6.3 ± 0.5 b	4.2 ± 0.3 c
CA	2.0 ± 0.1 cd	1.2 ± 0.1 c	2.1 ± 0.1 b	1.3 ± 0.1 c	8.8 ± 0.2 b	6.2 ± 0.3 cd
CAD	0.8 ± 0.1 d	0.5 ± 0.5 c	0.9 ± 0.0 b	0.6 ± 0.1 c	3.9 ± 0.1 b	3.1 ± 0.1 d

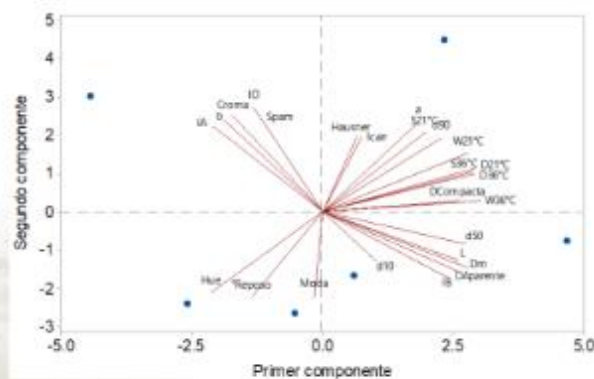


Figura 3. Análisis de componentes principales de diferentes marcas de leche en polvo

Diferentes propiedades físicas y de instantaneización de la leche en polvo fueron evaluadas mediante un análisis de componentes principales. Los altos contenidos de grasa y proteína pueden afectar a las propiedades de instantaneización ya que hace a la reconstitución más lenta, afecta al tamaño de partícula.



La Academia Mexicana de Investigación y Docencia  
en Ingeniería Química (AMIDIQ)

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

a:

Julio Emmanuel González-Pérez, Oscar Jiménez-González, Nelly Ramírez-Corona, Aurelio López-Malo

**Por la presentación del trabajo en modalidad cartel:**

ANÁLISIS DE LA TRANSFERENCIA DE MASA Y DE LAS CARACTERÍSTICAS  
DIMENSIONALES DE PASTA REHIDRATADA CON AGUA O SOLUCIONES DE CLORURO  
DE SODIO

  
Dra. María del Rosario Sánchez Rosado  
PRESIDENTA DEL AMIDIQ Y DEL COMITÉ ORGANIZADOR

  
Dr. Tomasa Alberta García  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO

ID: 115

Evento virtual del 08 al 11 de septiembre de 2021

## Análisis de la transferencia de masa y de las características dimensionales de pasta rehidratada con agua o soluciones de cloruro de sodio

**UDLAP**
J. E. González-Pérez, O. Jiménez-González, N. Ramírez-Corona, A. López-Malo aurelio.lopez@udlap.mx

**Introducción**  
 Uno de los principales aspectos a evaluar de las pastas deshidratadas es su capacidad de absorción de agua. Esta propiedad afecta a la calidad del producto rehidratado, como la pegajosidad, la firmeza, el hinchamiento y la pérdida de sólidos en el agua de cocción [1]. La industria alimentaria ha desarrollado modelos para predecir la rehidratación de productos alimenticios ya sea de forma empírica o teórica [2]. Los modelos matemáticos permiten diseñar y optimizar operaciones de hidratación o rehidratación [3].

**Objetivo**  
 El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la temperatura y la presencia de sal en el medio líquido de rehidratación sobre los coeficientes de transferencia de masa y las características dimensionales durante la rehidratación de la pasta.

**Materiales y métodos**  
 $d_0 = 1.9 \pm 0.03 \text{ mm}$   
 $L = 80 \pm 0.2 \text{ mm}$

**Transferencia de masa**

$$GA = Y_f \frac{m_t}{m_0} \quad (1)$$

$$Y_f = \frac{m_t - m_{t\infty}}{m_0 - m_{t\infty}} \quad (2)$$

$$PS = \frac{m_0 - m_{t\infty}}{m_0} \quad (3)$$

$$\Psi = 1 - \frac{GA}{GA_{\infty, 25 \text{ min}}} \quad (4)$$

Evolución del diámetro [5]

$$\frac{d}{d_0} = \Delta + (1 - \Delta) \Psi^m \quad (5)$$

**Modelación**

Fración de humedad libre adimensional ( $\Psi$ ) [6,7]

$$\Psi = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4}{\beta_n^2} \exp\left[-\frac{D\beta_n^2}{(d/2)^2} t\right]; \quad (6)$$

$$\beta_n = 2.4048$$

$$\frac{\partial \Psi}{\partial \theta} = D \frac{\partial^2 \Psi}{\partial \xi^2}; \quad \theta = \frac{D(t) \partial t}{[d(t)/2]^2} \quad (7)$$

$$\Psi(\theta > 0, \xi = 1) = 0 \quad (8)$$

$$D(t) = D(\Psi) = [d(t)/2]^2 \frac{\partial \theta}{\partial t} \quad (9)$$

$$D = \frac{\int_0^1 D(\Psi) d\Psi}{\int_0^1 d\Psi} \quad (10)$$

Soluciones de rehidratación [3,4]:  
 0 o 1 g NaCl/L  
 Temperatura: 65 o 98 °C  
 10 g solución / g muestra  
 t: 0 - 1600 min

**Resultados**  
 Los resultados mostraron que, a los 1600 s (25 min) del proceso, se alcanzaron valores de  $GA$  y  $PS$  que se situaron en intervalos de 0.634 - 1.603 g agua/g producto y 0.052 - 0.135 g sólidos/g producto (Fig. 1 y 2). Los datos de cambio de tamaño del producto fueron descritos a partir de la variación del diámetro adimensional de las muestras de acuerdo con el modelo:  $d/d_0 = \Delta + (1 - \Delta)\Psi^m$  ( $R^2 = 0.70$ , Fig. 3), donde  $\Delta = 1.26$  (IC 95% = 1.24 - 1.27) y  $m = 1.07$  (IC 95% = 0.96 - 1.17). Al comparar las variaciones dimensionales entre cada tratamiento, se observa que los productos rehidratados por 25 min ( $\Psi = 0$ ) exhiben un incremento de 21 - 35% ( $p < 0.05$ ) respecto a su valor inicial ( $1.9 \pm 0.03$  mm). Finalmente, las difusividades promedio del agua en el producto rehidratado en soluciones con y sin NaCl a 98 °C (Tabla 1) fueron  $4.47 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  y  $3.65 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ , respectivamente. En el caso de las muestras rehidratadas a 65 °C las difusividades fueron de  $1.43 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  y  $4.23 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  bajo las condiciones estudiadas.

Temp. (°C)	Conc. (g NaCl / L)	D × 10 <sup>10</sup> (m <sup>2</sup> / s) <sup>a</sup>	R <sup>2</sup>
98	1	4.47 (5.04 / 4.28)	0.994
98	0	3.65 (4.03 / 3.25)	0.993
65	1	1.43 (1.41 / 1.44)	0.915
65	0	4.23 (4.11 / 4.39)	0.950

<sup>a</sup> Los valores entre paréntesis indican los intervalos de confianza al 95%.

**Conclusiones**  
 El análisis realizado permite contemplar las variaciones del tamaño de espagueti durante el proceso de rehidratación, describiendo adecuadamente la ganancia de agua con ayuda de un modelo difusivo de transferencia de masa. El efecto de la temperatura y del contenido de sal afecta las velocidades de transferencia de masa (agua y sólidos) y a las dimensiones de la pasta.

**Referencias**

- Rosentrater et al. Kent's Technol. C. (2018) 657-698.
- Bensoddik et al. J Saudi Agric. Sci. 1 (2018) 1-9.
- Ogawa et al. Food Bioproc. Tech. 7 (2013) 1465-1471.
- Da Silva et al. J. Agric. Stud. 3 (2015) 60-78.
- Ruiz-López et al. J. Food Eng. 108 (2012) 427-435.
- Aimoto et al. Food Sci. and Technol. 19 (2013) 17-22.
- Cunningham et al. J. Food Eng. 82 (2007) 600-607.

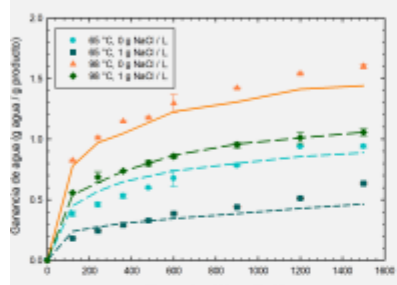


Fig. 1. Cinética de ganancia de agua

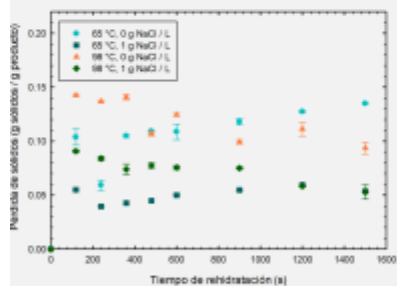


Fig. 2. Cinética de sólidos perdidos

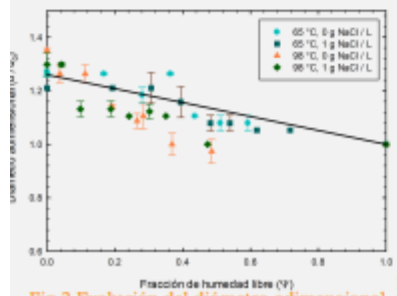


Fig. 3. Evolución del diámetro adimensional



# Congreso Internacional Inocuidad de Alimentos

XXXVIII Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos  
Edición Online 4, 5 y 6 de noviembre 2021



Universidad de  
Guadalajara

La Universidad de Guadalajara otorga la presente

# CONSTANCIA



A: González-Pérez, J.E., Jiménez-González, O., y López-Malo, A.


por su participación como:

Autores del trabajo libre presentado en modalidad cartel

"Modelación del tiempo de germinación de esporas de *Aspergillus flavus* en presencia de carvacrol"

Dra. Ruth Padilla Muñoz  
Rectora del Centro Universitario de  
Ciencias Exactas e Ingenierías


Dr. Óscar Blanco Alonso  
Secretario Académico del Centro Universitario de  
Ciencias Exactas e Ingenierías



## Modelación del tiempo de germinación de esporas de *Aspergillus flavus* en presencia de carvacrol


**González-Pérez, J. E., Jiménez-González, O. y López-Malo, A.**  
Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.

Contacto: aurello.lopezm@udlap.mx



---

### Introducción



Se puede encontrar en: Tejidos de plantas, semillas, nueces y diversos alimentos [2].

Su crecimiento se ve influenciado por la actividad de agua ( $a_w$ ), temperatura, pH, composición de la atmósfera ( $O_2$  o  $CO_2$ ), agentes antimicrobianos, tiempo de almacenamiento, entre otros[2, 4-5].

Modelos matemáticos han sido usados para predecir las condiciones de formulación, elaboración y almacenamiento para prevenir el crecimiento de *A. flavus* en ciertos alimentos [5,6]. Un ejemplo de estos modelos es el modelo de tiempo de detección que permite ajustar la probabilidad de que se detecte el crecimiento de cierto microorganismo bajo ciertas condiciones [6].

En este trabajo, la respuesta del tiempo para detectar el crecimiento de *A. flavus* en un sistema modelo con diferentes combinaciones de  $a_w$ , pH y concentración de carvacrol previamente estudiado por López-Malo y colaboradores [7] fueron usados con el objetivo de describir el tiempo de germinación de esporas de *A. flavus* mediante un modelo de tiempo de detección.

### Materiales y métodos

**Tabla 1. Tiempo medio de germinación (lag) de *Aspergillus flavus* en agar papa deshidratada formulado con valores seleccionados de  $a_w$ , pH y diferentes concentraciones de carvacrol a 25°C.**

$a_w$	pH	Concentración de carvacrol (ppm)	Lag (h)	Censura*
0.95	4.5	0	30.7	F
0.95	4.5	100	103.0	F
0.95	4.5	200	389.5	F
0.95	4.5	300	>700	C
0.95	4.5	400	>700	C
0.95	4.5	500	>700	C
0.95	4.5	600	>700	C
0.95	4.5	700	>700	C
0.95	3.5	0	19.4	F
0.95	3.5	100	92.8	F
0.95	3.5	200	>700	C
0.95	3.5	300	>700	C
0.95	3.5	400	>700	C
0.95	3.5	500	>700	C
0.99	4.5	0	17.4	F
0.99	4.5	100	15.9	F
0.99	4.5	200	104.8	F
0.99	4.5	300	622.1	F
0.99	4.5	400	>700	C
0.99	3.5	300	>700	C
0.99	4.5	600	>700	C
0.99	4.5	700	>700	C
0.99	3.5	0	17.5	F
0.99	3.5	100	49.1	F
0.99	3.5	200	64.0	F
0.99	3.5	300	>700	C
0.99	3.5	400	>700	C
0.99	3.5	500	>700	C

\*C = dato censado (sin crecimiento), F = falta (crecimiento) López-Malo y colaboradores [7].

**Datos experimentales [7]:** Se inoculó un sistema modelo (formulado con agar papa deshidratada y carvacrol)

**Variables (composición del sistema modelo)**  
 $x_1 \rightarrow a_w$  (0.99 o 0.95)  
 $x_2 \rightarrow pH$  (4.5 o 3.5)  
 $x_3 \rightarrow$  Concentración de carvacrol (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 y 700 ppm)

**Respuesta:** Lag → tiempo de germinación de *Aspergillus flavus* en sistemas modelo incubados a 25°C durante 700 h

**Modelo de tiempo de detección**

$$\ln(TTD(x)) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3$$

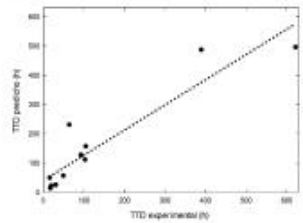
$x_i = \frac{x_i - \bar{x}_i}{s_i}$  (2)

**Análisis estadístico**  
El ajuste de regresión del modelo se realizó con el software Minitab 18

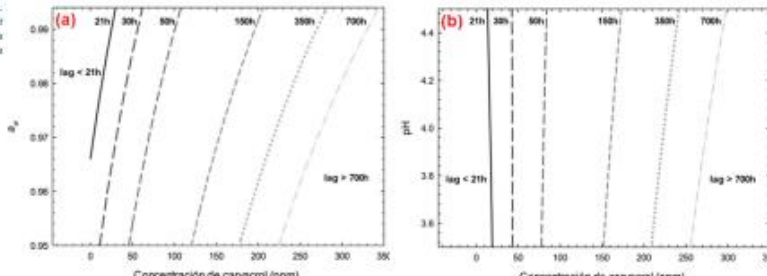
---

### Resultados

El modelo de tiempo de detección de la germinación de esporas de *A. flavus* se presenta en la Tabla 2. La interacción  $a_w \times pH$  no mostró tener un efecto significativo ( $p > 0.15$ ). No obstante, el modelo reducido permite describir los datos experimentales (TTD experimentales) con un coeficiente de correlación,  $R^2=0.86$  como se muestra en la Fig. 1.



**Figura 1.** Tiempo de detección (TTD) experimental y predicho de la germinación de esporas de *Aspergillus flavus* en agar papa deshidratada formulado con valores seleccionados de  $a_w$  y pH y diferentes concentraciones de carvacrol (ppm).



**Figura 2.** Predicción del tiempo para que se detecte la germinación (lag) de *Aspergillus flavus* en agar papa deshidratada formulado con concentraciones seleccionadas de carvacrol, (a) pH=4.5 y (b) pH=3.5.

---

**Tabla 2. Coeficientes significativos del modelo del tiempo de detección.**

Variable	Coefficiente*
Interacción	$\beta_0$ 7.31
$a_w$	$\beta_1$ -0.75
pH	$\beta_2$ -0.33
CC	$\beta_3$ 3.07
$a_w \times pH$	$\beta_{12}$ -
$a_w \times CC$	$\beta_{13}$ -0.36
$pH \times CC$	$\beta_{23}$ -0.27

Concentración de carvacrol (CC, ppm).  
\* $p < 0.15$ , modelo con variables normalizadas.

### Conclusiones

El modelo de tiempo de detección es una herramienta útil para modelar el tiempo de germinación de esporas de *A. flavus*. Asimismo, proporcionan un medio práctico para evaluar los efectos combinados de las condiciones de formulación (variando  $a_w$ , pH y la concentración de carvacrol). Se requiere de al menos 350 ppm de carvacrol para inhibir la germinación de las esporas de *A. flavus*.

---

### Agradecimientos

Los autores González-Pérez y Jiménez-González agradecen el apoyo financiero para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México.

### Referencias

1. Lima J. C. et al. (2019) Carvacrol and Thymol as potential preservatives against *Aspergillus* in maize grains. *Braz. J. Plant Agric.* 31(11):630-638
2. Santos P. et al. (2011) Effect of time-temperature on the growth of *Aspergillus* species in relation to its concentration, temperature and water activity. *Let. Appl. Microbiol.* 33(7): 50-58
3. Tahir M. et al. (2010) Effect of environmental factors on *Aspergillus* growth and aflatoxin production in bread. *Food Qual. Saf.* 4(2): 21-29
4. Kavanagh C. B. et al. (2017) Description of *Aspergillus* species growth under the influence of different factors: water activity, incubation temperature, protein and fat concentrations, pH, and moisture content of cereal-based by-products: probability of growth, and time-to-detection models. *Int. J. Food Microbiol.* 248(7): 119-123.
5. Lee S. et al. (2010) Mathematical models to predict growth and aflatoxin production of *Aspergillus* species under various temperature and water activity conditions. *Food Sci. Biotechnol.* 23(5): 679-692
6. Pinna E., López-Malo A. (2020) Mathematical modeling of *Aspergillus* growth. *Advances in Food Biotechnology*. Volume 177. Heading H. D., Hsu J. J., Gomez R.A. y Trivedi S. (Eds.), Food Biotech. 2017-2026. Springer, Ltd.
7. López-Malo A. et al. (2020) *Aspergillus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food Microbiol.* 362(2): 119-126.
8. Zhou L. et al. (2020) Inhibition Size of *Clavibacter* Infection on Pepper Infection: Time-to-Detection and Period Growth-Positive Samples. *J. Food Sci.* 91(8): 1389-1395

# XXIII Congreso Internacional Inocuidad de Alimentos

XXXVIII Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos

Edición Online 4, 5 y 6 de noviembre 2021



La Universidad de Guadalajara otorga la presente

# CONSTANCIA



A: Jiménez-González, O., González-Pérez, J.E., y López-Malo, A.

por su participación como:

Autores del trabajo libre presentado en modalidad cartel

"Predicción de la supervivencia de *Aspergillus flavus*: modelo probabilístico y tiempo de falla"

*Rodilla*

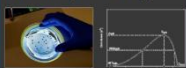
Dra. Ruth Padilla Muñoz  
 Rectora del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

*Blanco*

Dr. Oscar Blanco Alonso  
 Secretario Académico del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

## INTRODUCCIÓN

La microbiología predictiva relaciona el control y manipulación de alimentos con la seguridad y calidad de los mismos. Para ello, utiliza modelos matemáticos a partir de datos experimentales que describen o estiman parámetros biológicos como la velocidad de crecimiento, el tiempo de latencia, la velocidad de inactivación, entre otros [1].



Los modelos **mecánicos** (describen el comportamiento cinético microbiano).

Los modelos **empíricos** (describen, reproducen y predicen el comportamiento).

Los modelos **probabilísticos** (centrados en el efecto de la estocasticidad en la evolución de la población microbiana) [2].

Por ejemplo la regresión logística y/o el tiempo de crecimiento/falla.

*Aspergillus flavus* es responsable del deterioro de muchos alimentos, así como la producción de toxinas [3].



Debido a lo anterior el objetivo de este trabajo es presentar modelos probabilísticos que describan la influencia de la aw, pH y la concentración de eugenol en el tiempo de germinación de *A. flavus*.

## PREDICCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE *Aspergillus flavus*: MODELO PROBABILÍSTICO Y TIEMPO DE FALLA

Jiménez-González, O., González-Pérez, J.E., y López-Malo, A.

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla

Metodología		Minitab	
Datos experimentales	aw: 0.95 o 0.99 pH: 3.5 o 4.5 Eugenol: 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ppm	Minitab	
Regresión logística	Crecimiento "1" Cuando no se observa crecimiento "0"	$p(x) = \frac{\exp(\sum \beta_i x_i)}{1 + \exp(\sum \beta_i x_i)}$	Logit(P) = $\ln \left( \frac{p}{1-p} \right) = g(x)$ ; $g(x) = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ij} x_i x_j$ p(x) probabilidad de crecimiento, g(x) modelo polinomial, xi variables (aw, pH, eugenol) y $\beta_i$ coeficientes
Regresión del tiempo de falla	Crecimiento "1" Cuando no se observa crecimiento después de 1440 h °C"	$\ln[TTD(x)] = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ij} x_i x_j$	$v_{ij} = \frac{v_i - \text{promedio}}{\text{desviación estándar}}$ TTD(x) tiempo de crecimiento, $\beta_i$ coeficientes, xi son las variables (aw, pH, eugenol), vn variable normalizada, vi valor individual de cada variable

## RESULTADOS PARCIALES

Tabla 1. Coeficientes de los polinomios para el modelo de regresión logística y tiempo de falla.

Variable	Modelo de regresión logística	Modelo de tiempo de falla
Intersección	-1244.48	7.44
a <sub>1</sub>	1567.68	-0.59
pH	268.73	0.10
ppm	-0.12	3.92
a <sub>2</sub> pH	-303.92	-0.13
a <sub>3</sub> ppm	-154E-12	-
pH ppm	9.26E-14	-

- El modelo describe los datos experimentales adecuadamente (Tabla 2).
- Las interacciones en el modelo logístico no fueron significativas pero se mantuvieron para el cálculo de la probabilidad.
- El modelo predice el crecimiento/no crecimiento.
- La probabilidad de crecimiento aumenta con el pH y aw (Figura 1a).
- Se observó crecimiento cuando eugenol se agregaba entre 0 a 400 ppm.
- No se observó crecimiento en concentraciones de 550 a 1000.
- Los valores críticos de eugenol aumentan a valores altos de aw y bajos de pH (Tabla 2).
- La concentración disminuye con la probabilidad.
- Las concentraciones críticas se encontraron entre 468.1 a 567.9 ppm.

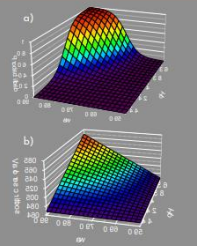


Figura 1. a) Probabilidad de crecimiento de *Aspergillus flavus* variando los valores de pH y aw a 25 °C, 500 ppm de eugenol. b) Valores críticos de eugenol (P = 0.1) a diferentes combinaciones de aw y pH.

Tabla 2. Valores críticos de eugenol a las combinaciones de aw y pH seleccionadas y puntos centrales a diferentes niveles de probabilidad.

a <sub>1</sub>	pH	P = 0.1	P = 0.5	P = 0.9
0.95	4.5	468.1	450.1	432.1
0.95	3.5	468.1	450.1	432.1
0.99	4.5	468.1	450.1	432.1
0.99	3.5	567.9	549.9	531.9
0.97	4.0	493.3	475.3	457.3

- El modelo de tiempo de falla (Tabla 1) presenta un buen ajuste (Figura 2).
- La interacción aw-pH fue significativa.
- El tiempo de germinación aumenta en concentraciones más altas de eugenol.
- Concentraciones cercanas de 200 ppm de eugenol el tiempo de germinación es de 100 h e incrementa con la concentración de eugenol (Figura 3).
- A valores de 0.95 de aw se requieren concentraciones más bajas de eugenol.
- A valores de aw de 0.95 se observa una pendiente ligera y es nula en aw 0.99 (Figura 3).
- La dependencia del pH es evidente en aw igual a 0.95 (Figura 3a) es necesario una mayor cantidad de eugenol para a pH bajos.
- En aw de 0.99 sin importar el pH se observa crecimiento.

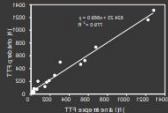


Figura 2. Ajuste de la correlación entre los datos predictivos (logit(P)) vs. experimentales.

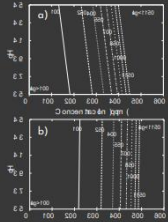


Figura 3. Tiempo para observar la germinación de *Aspergillus flavus* para diferentes combinaciones de pH, concentraciones de eugenol y aw de a) 0.95 a b) 0.99.

## CONCLUSIONES

- Los modelos logístico y tiempo de falla son útiles para conocer las condiciones de aw, pH y concentración de eugenol a las cuales *A. flavus* puede crecer o no crecer.
- Además, es posible que conociendo el tiempo al cual *A. flavus* puede crecer, podamos extrapolarse a alimentos reales.
- Por otro lado, es necesario la adición de eugenol para reducir el tiempo de germinación de *A. flavus*, o de ser necesario agregar por lo menos 600 ppm para extender la fase lag más de 1400 h.

## REFERENCIAS

[1] González, P. et al. (2009) Minitab: A software tool for predictive microbiology and microbial risk assessment. *Food, Bioprocess Technology* 2(8): 888-896.

[2] Ferraz, P. et al. (2009) Mathematical modeling methodologies in

predictive food microbiology. A SWOT analysis. *Int J Food Microbiol* 140(3): 3-8.

[3] Gil, H. et al. (2005) Growth map and suitability of *Aspergillus flavus* Fungal Genet Res 14(4): 1034-1038.

## AGRADECIMIENTOS

Oscar Jiménez González agradece a la UDLAP y al CONACYT por el financiamiento para sus estudios de posgrado.

## UDLAP

Contacto:  
oscar.jimenezg@udlap.mx



# Certificate of Participation

This certifies that

## Oscar Jiménez-González

poster attended

Survival, physicochemical and sensory changes of *Lactobacillus rhamnosus* addition to vanilla mixture ice-cream


Attended SHIF20® July 12-15, 2020 held virtually

The IFT20 scientific and applied sessions qualify for Certified Food Scientist (CFS) recertification contact hours (CH). CFS Certificants may claim a maximum of 22 CH for their participation in scientific and technical symposia and poster sessions related to the CFS Content Domains.

IFT is a Continuing Professional Education (CPE) accredited provider (#841) with the Academy of Nutrition and Dietetics' Commission on Dietetic Registration (CDR).



**Daniel Gullickson**  
IFT Registration Meeting Planner



**Survival, physicochemical and sensory changes of *Lactobacillus rhamnosus* addition to vanilla mixture ice-cream**

**UDLAP**


Jiménez-González, O. J., González-Pérez J.E.<sup>1</sup>, Recio-Cázares, S.L.<sup>1</sup>, & Guerrero-Beltrán, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Food Sciences Doctorate Program, Department of Chemical, Food and Environmental Engineering, Universidad de las Américas Puebla, Puebla, México.

### INTRODUCTION

Probiotics have been associated to several benefits in human health... *Lactobacillus rhamnosus* has shown several characteristics: the ability to survive in acid environments, colonize gut, antimicrobial substance production and rapid growth rate... In addition, dairy products could be a way to ingest these probiotics, particularly ice cream, and it is highly acceptable, and its consumption is very common. However, the freezing processing affects the availability of probiotics, because they are subjected to stress. In addition, the addition of probiotics could change the sensory attributes in the final product due to the production of some compounds.

### RESULTS



Results showed that the bacterial addition, before the ice cream mixture maturation, increased the number of viable bacteria from 7.71±0.27 to 8.43±0.34 log CFU/g. It is important to say that bacteria passed through different stress conditions such as different pH, high osmotic environment due to the sugar and other solids ingredients.

### CONCLUSIONS

The ice cream with probiotics had a good concentration of viable bacteria and could be a good source of probiotic. The addition time of probiotic to the ice cream mixture is important because can affect the chemical and sensory characteristics: lactic acid increased and sensory characteristics improved.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors Jiménez-González O., González-Pérez J.E., Recio-Cázares, S.L. thanks to Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship granted to complete their Ph.D. studies.

### METHOD

- Bacterium culture**
  - Biomass was grown in milk (1:100/25 °C/48 h in a shaken bath).
  - Biomass was obtained by centrifugation (4000 g/10 min/4 °C), final concentrations 3.87x10<sup>8</sup> a 6.0x10<sup>9</sup> CFU/g.
- Bacteria biomass incorporation**
  - Bacteria culture (10% of the final mixture) was added 24 h before and 2 h after the maturation of the ice-cream mixture (Fig. 1).

### Ice-cream formulation

- The ice-cream mixture contained heavy milk (35.5%), sugar (40%), skim milk powder (4.7%), pH-adjusted CMC-Guar-gum (1%), 0.04% NaCl and vanilla (0.3%). All ingredients were mixed in a blender at high speed.
- The mixture was placed in polystyrene bags and pasteurized at 80 °C (15 seg.) and then cooled down at 4 °C.

### Analysis

- Before freezing, pH, acidity and bacteriological counts were made. After freezing, color and bacteria counts were performed.
- Frozen ice cream was analyzed in a paired comparison and 9-point hedonic scale (taste, mouth-feel and flavor attributes) one week of storage.

### Table 1. Physicochemical characteristics ice creams with probiotics at different bacteria addition times

Sample	Characteristics*		
	pH	Lactic acid (%)	Density (g/cm <sup>3</sup> )
Ice cream mixture	6.49 ± 0.014 a	0.213 ± 0.012 c	1.087 ± 0.005 a
Bacteria added before maturation period	6.29 ± 0.021 b	0.285 ± 0.003 b	1.077 ± 0.024 a
Bacteria added after maturation period	6.04 ± 0.028 c	0.392 ± 0.005 a	1.077 ± 0.003 a

\*Values expressed in mean ± standard deviation, a-c Different letters at the same column mean significant difference (p < 0.05).

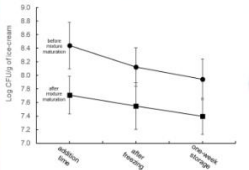
pH decreases and acidity increase (Table 1), this reduction is more evident at 0h addition of *L. rhamnosus*, because mixture before the maturation did not have time to stabilize. Density increased with the freezing; however, no statistical differences were observed within treatments. The color characteristics changed with the bacteria addition (0 h and 24 h treatment), very possibly because the fermentation time (24 h).

### Table 2. Color parameters of ice cream with probiotics

Sample	Color parameters				
	L*	a*	b*	Chroma	Hue
Bacteria added before maturation period	74.68 ± 3.57 a	-2.32 ± 0.20 a	11.66 ± 0.72 b	11.89 ± 0.75 b	101.23 ± 0.32 a
Bacteria added after maturation period	80.87 ± 1.21 a	-2.99 ± 0.03 b	13.32 ± 0.41 a	13.65 ± 0.41 a	102.04 ± 0.24 a

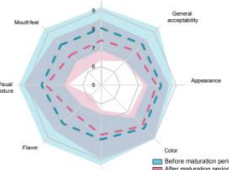
\*Mean ± standard deviation. Different letters at the same column indicates significant differences (p < 0.05).

### Fig 1. Lactobacillus rhamnosus counts after addition, after freezing and after one week of storage.



The storage time decreased the number of bacteria. The viable bacteria count, established by some outliers, to consider a food as probiotic are 10<sup>7</sup> to 10<sup>8</sup> CFU/g. The remaining viable cells in the ice cream after storage accomplished this characteristic.

### Fig 3. Sensory evaluation characteristics, tasted by hedonic scale, of ice creams with probiotics.



The sensory evolution (Fig. 3) did not show differences between the samples in all characteristics evaluated; however, both types of ice cream were highly accepted by the untrained judges, the paired comparison test showed that judges preferred the samples with bacteria addition 24 h before freezing, due to a slight sour taste.

311

# Secado por aspersión como método de conservación y estabilización de pigmentos extraídos de frutos y plantas con alto potencial antioxidante



## Certificate of Participation

This certifies that

### Oscar Jiménez González

---

poster attended

**Physicochemical and Sensory Characteristics of Cookies Elaborated With Residues of Chia Oil Extraction**

---


Attended SHIFT20<sup>®</sup> July 12-15, 2020 held virtually

The IFT20 scientific and applied sessions qualify for Certified Food Scientist (CFS) recertification contact hours (CH). CFS Certificants may claim a maximum of 22 CH for their participation in scientific and technical symposia and poster sessions related to the CFS Content Domains.

IFT is a Continuing Professional Education (CPE) accredited provider (#64) with the Academy of Nutrition and Dietetics' Commission on Dietetic Registration (CDR).




**Daniel Gullicksen**  
IFT Registration Meeting Planner



**Contact Information:**  
E-mails: [scarlette.recios@udlap.mx](mailto:scarlette.recios@udlap.mx) [angel.guerrero@udlap.mx](mailto:angel.guerrero@udlap.mx)

### Physicochemical and sensory characteristics of cookies elaborated with residues of chia oil extraction

Recio-Cázares, S.L, Jiménez-González, J.E and Guerrero-Beltrán, J.A.  
Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla, Sta. Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla, CP: 72810 México.



#### INTRODUCTION

The chia seed (*Salvia hispanica*) is a good source of protein and dietary fiber. The consumption of chia dietary fiber could be an important alternative to improve people's health. Thus, the development of a novel product (a cookie) added with chia residues from oil extraction. The consumption of chia added cookies as a snack, could contribute to add economic value to residues, benefit the producers to increase their profits and health improvement to the consumers; hence, lowering the oil extraction chia waste (underlined).

#### AIM

The objective of this research was the use of chia residues from oil extraction and prepare high value nutrient cookies with good sensory acceptability.

#### METHOD

Duplicate ground chia residue were used to prepare cookies.

Four formulations with 25, 50, 75 and 100% flour replacement with chia residue were made and a control with only wheat flour.

Cookies were analyzed in proximal analysis (moisture, ash, fat, protein, fiber, total carbohydrates, total reducing sugars and dietary fiber), sensory (hardness and color) (L\*, a\*, b\*).

Sensory analysis was performed with 50 untrained judges - residents in sensory - descriptive laboratories, color, odor, visual texture, taste and mouthfeel, general acceptability, and texture characteristics (crispiness, hardness and brittleness).

Data were statistically analyzed by ANOVA and Tukey test (p<0.05) using the Minitab 19 program.

#### RESULTS




Fig. 1. Chia cookies made with chia flour: a) 0% chia flour, b) 25% chia flour, c) 50% chia flour, d) 75% chia flour, e) 100% chia flour.

##### Proximal analysis

• Cookies containing chia residue showed an increase in protein, fiber, and sodium.  
• On the contrary a reduction in total carbohydrates in all cookies was observed with respect to the control (0% chia).

Sample	Moisture	Ash	Fat	Protein	Fiber	CBOS	Total reducing sugars	Sodium (mg/100g)
0% chia	4.41 ± 0.04	0.48 ± 0.10	0.76 ± 0.10	0.73 ± 0.10	0.08 ± 0.10	0.35 ± 0.10	15.1 ± 0.01	
25% chia	11.5 ± 0.01	12.2 ± 0.01	11.4 ± 0.10	10.0 ± 0.01	4.4 ± 0.01	17.5 ± 0.10	2.49 ± 0.10	
50% chia	4.4 ± 0.08	1.5 ± 0.47	11.0 ± 0.10	11.7 ± 0.10	0.56 ± 0.20	40.9 ± 0.10	2.05 ± 0.10	
75% chia	6.10 ± 0.01	2.80 ± 0.10	11.5 ± 0.10	14.2 ± 0.01	11.4 ± 0.10	44.9 ± 0.10	1.47 ± 0.10	
100% chia	17.5 ± 0.20	1.65 ± 0.10	11.8 ± 0.10	16.4 ± 0.01	17.0 ± 0.10	41.4 ± 0.10	1.52 ± 0.10	

##### Sensory analysis

• The sensory analysis shows that panellists' preferences were higher for cookies containing 25 and 50% chia residue in all the parameters evaluated.  
• Complete replacement with chia flour exhibit the lowest values.

Sample	Aggressiveness	Color	Odor	Taste in the mouth	Taste	Texture	General acceptability	General acceptability of firmness
0% chia	7.12 ± 0.22*	4.76 ± 1.14*	7.44 ± 1.34*	6.94 ± 1.03*	7.52 ± 1.04*	7.13 ± 1.26*	7.2 ± 1.04*	7.74 ± 1.17*
25% chia	7.80 ± 1.32*	7.09 ± 1.14*	7.84 ± 1.07*	8.02 ± 1.00*	8.29 ± 0.69*	8.26 ± 0.76*	8.1 ± 0.87*	8.26 ± 0.87*
50% chia	7.14 ± 1.00*	7.1 ± 1.04*	7.44 ± 1.17*	7.3 ± 0.92*	7.8 ± 1.07*	7.76 ± 0.92*	7.72 ± 0.94*	7.86 ± 1.07*
75% chia	6.53 ± 1.44*	6.24 ± 1.47*	7.44 ± 1.47*	7.04 ± 1.07*	6.98 ± 1.46*	6.73 ± 1.37*	6.72 ± 1.44*	6.9 ± 1.34*
100% chia	6.03 ± 1.32*	6.2 ± 1.37*	6.63 ± 1.47*	6.2 ± 1.37*	6.3 ± 1.14*	6.02 ± 1.27*	6.14 ± 1.46*	6.06 ± 1.47*

##### Hardness analysis

• All the formulations of cookies with chia residue had a lower hardness than the control sample.




Fig. 1. Compression test of chia cookies

#### CONCLUSIONS

In general, the sample containing 25% chia flour and 75% wheat flour was the best accepted in all parameters evaluated. Residues of chia oil extraction have a high protein and fiber content, they can be used for making food products, such as cookies, substituting flours of wheat, oat and rice. Consumers may have health benefits with the consumption of chia products.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors Recio-Cázares, S.L, Jiménez-González O., González-Pérez J.E recognize to Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship granted to complete their Ph.D. studies, and Dr. Guerrero-Beltrán to all the time and support to this project.

#### REFERENCES

- Alfredo, V.O., Gabriel, R.R., Luis, C.G. & David, B.A. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *IFT - Food Science and Technology*, 42(1), 105-113.
- Lucas-González, R., Vilda-Martos, M., Pérez-Avare, J. A., & Fernández-López, J. (2010). Antioxidant potential and quality characteristics of Mediterranean fruit-based extruded snacks. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(12), 2674-2681.
- Soukousis, C., Ganan, C. & Hoffmann, L. (2018). Flax seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 25-42.





# Certificate of Participation

This certifies that

## Oscar J. Gonzalez

---

poster attended

**Physicochemical and Sensory Analysis Characteristics of Inulin-Xanthan Gum, Mesquite Gum-Carrageenan, and Egg Albumin-Gelatin as Replacers of Gelatin in Marshmallow**


**Attended SHIFT20® July 12-15, 2020 held virtually**

The IFT20 scientific and applied sessions qualify for Certified Food Scientist (CFS) recertification contact hours (CH). CFS Certificants may claim a maximum of 22 CH for their participation in scientific and technical symposia and poster sessions related to the CFS Content Domains.

IFT is a Continuing Professional Education (CPE) accredited provider (M41) with the Academy of Nutrition and Dietetics' Commission on Dietetic Registration (CDR).




**Daniel Gullicksen**  
IFT Registration Meeting Planner



### Physicochemical and Sensory Analysis Characteristics of Inulin-Xanthan Gum, Mesquite Gum-Carrageenan and Egg Albumin-Gelatin as Replacers of Gelatin in Marshmallow

J. E., González-Pérez<sup>1</sup>, O., Jiménez-González<sup>1</sup>, S.L., Recio-Cázares<sup>1</sup>, J.A., Guerrero-Beltrán<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla, C.P. 72810, México.



Contact Information:  
[julio.gonzalezpz@udlap.mx](mailto:julio.gonzalezpz@udlap.mx), [angel.guerrero@udlap.mx](mailto:angel.guerrero@udlap.mx)


#### INTRODUCTION

Marshmallows are defined as tiny air bubbles surrounded by sugar syrup, and proteins (gelatin). The typical ingredients for making marshmallows are gelatin, sucrose, glucose syrup and flavorings. Gelatin the most important ingredient because helps to maintain firm and works as the gelling agent. New sources of hydrocolloids to marshmallow productions are sought: inulin, xanthan gum, mesquite gum, carrageenan and egg albumin.

#### AIM

The objective of this study was to evaluate the effect of inulin-xanthan gum and mesquite gum-carrageenan blends or egg albumin on the physicochemical and sensory characteristics of marshmallows reduced in gelatin.

#### METHOD



#### RESULTS

##### Marshmallows




Fig 1. Marshmallow samples. A. Gelatin marsh marshmallow; B. Egg albumin and gelatin; C. Egg albumin and inulin-xanthan gum; D. Egg albumin and mesquite-carrageenan gum.

##### Color

Sample	L*	a*	b*	Crroma	Hue	ΔE
Gelatin	95.91 ± 0.41 <sup>a</sup>	-0.41 ± 0.18 <sup>a</sup>	4.11 ± 0.13 <sup>a</sup>	4.14 ± 0.13 <sup>a</sup>	95.89 ± 2.53 <sup>a</sup>	
Egg albumin-gelatin	94.71 ± 0.37 <sup>a</sup>	-0.44 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.30 <sup>a</sup>	6.52 ± 0.30 <sup>a</sup>	93.86 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.48 <sup>a</sup>
Inulin-xanthan	95.44 ± 0.26 <sup>a</sup>	-0.48 ± 0.19 <sup>a</sup>	0.87 ± 1.39 <sup>a</sup>	0.79 ± 1.39 <sup>a</sup>	94.45 ± 0.16 <sup>a</sup>	12.78 ± 0.56 <sup>a</sup>
Mesquite-carrageenan	84.11 ± 0.52 <sup>b</sup>	-0.03 ± 0.53 <sup>b</sup>	11.11 ± 0.88 <sup>b</sup>	11.12 ± 0.88 <sup>b</sup>	90.78 ± 2.81 <sup>b</sup>	10.67 ± 1.81 <sup>b</sup>

Mean ± standard deviation. Equal letter letters in the same column to each parameter do not differ statistically by Tukey's test (p < 0.05).

##### Texture

Sample	Hardness (N)	Cohesiveness	Sponginess	Chewiness	Gumminess
Gelatin	3.95 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.05 <sup>a</sup>
Egg albumin-gelatin	4.68 ± 1.0 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.32 <sup>a</sup>
Inulin-xanthan	1.79 ± 0.25 <sup>b</sup>	0.32 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.82 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.07 <sup>b</sup>
Mesquite-carrageenan	0.81 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.45 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.39 ± 0.04 <sup>b</sup>

Mean ± standard deviation. Equal letter letters in the same column to each parameter do not differ statistically by Tukey's test (p < 0.05).

#### Sensory Analysis

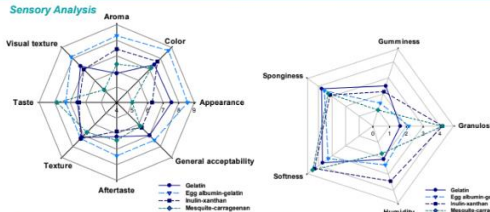


Fig 2. Radar chart of the sensory evaluation by hedonic scale of marshmallow. Fig 3. Radar chart of sponginess, stickiness, granulosidad, wet and softness structured test of marshmallow.

#### Significance

Mesquite gum-carrageenan and inulin-xanthan gum can be used for making aerated soft and gummy confectionery products for replacing gelatin in the marshmallow production.

#### Acknowledgements

González-Pérez, J.E., Jiménez-González, O. and Recio-Cázares, S.L. thank to Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship granted to complete their Ph.D. studies.

#### References

- Kiril, E., Aydogdu, A., Oztop, M.H. (2017). Investigation of physical properties and moisture sorption behaviour of different marshmallow formulations. *Acta Horticulturae*, (1152), 243-248. doi:10.17680/actahort.2017.1152.3
- Pierche, A., Heredia, A., Escroff, I., Andea, A., Castañó, M.L. (2015). Potential use of isomaltohe to produce healthier marshmallows. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 605-612. doi:10.1016/j.lwt.2014.12.024
- Unguez, E., Saurimite, E., Muñoz-Beltrán, S., Delgado, L. (2013). Consumer Attitude and Sensory Evaluation of Marshmallow. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences*, 67(4-5), 442-447. doi:10.2478/probs-2013-0077

# AMIDIQ

Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.



XLIII Encuentro Nacional de la AMIDIQ  
"La Ingeniería Química,  
la Sostenibilidad y la Economía Circular"

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia  
en Ingeniería Química A.C.

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

a:


Oscar Jiménez-González, Julio Emmanuel González-Pérez, José Ángel Guerrero-Beltrán

### Por la presentación del trabajo en modalidad cartel:

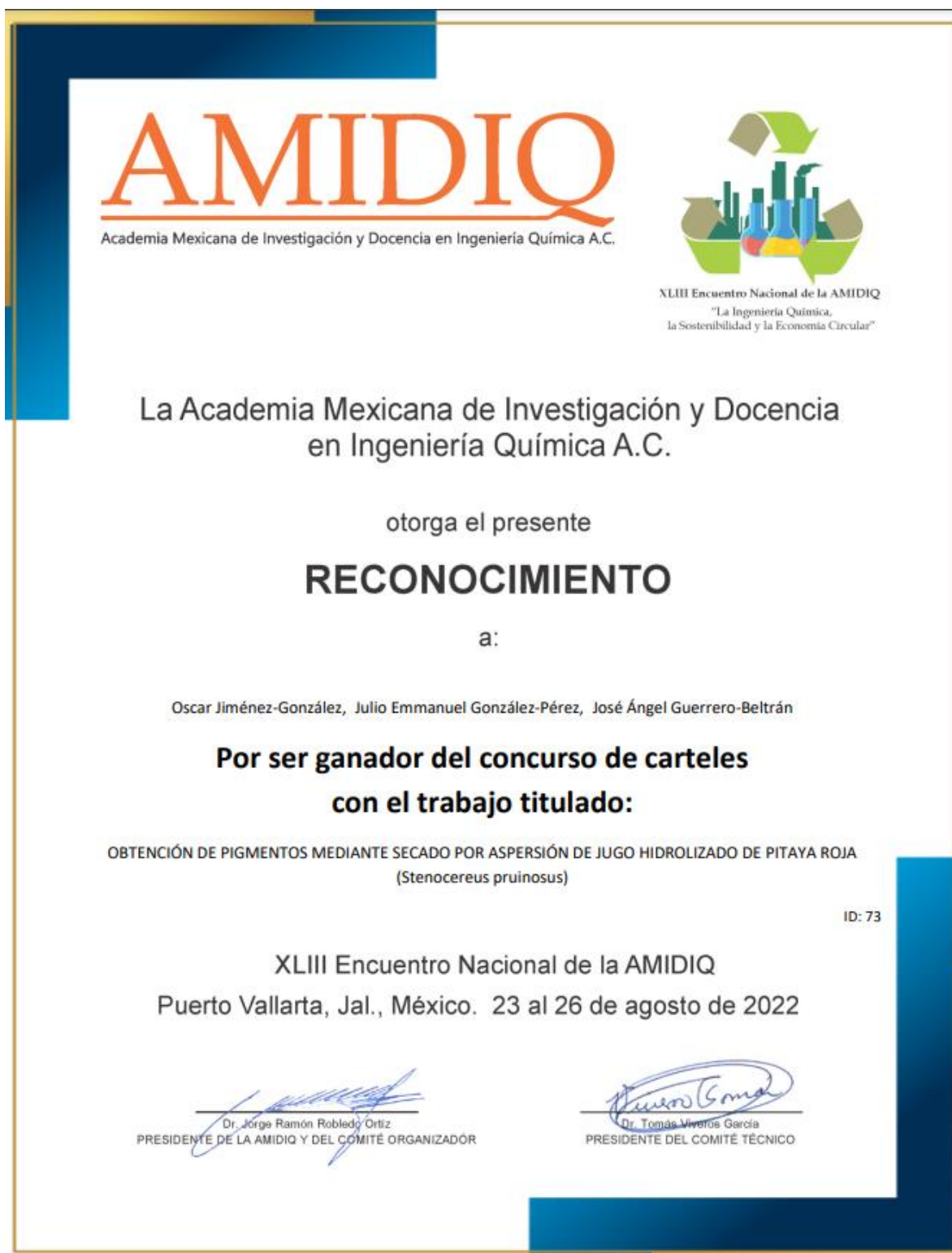
OBTENCIÓN DE PIGMENTOS MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE JUGO HIDROLIZADO DE PITAYA ROJA  
(*Stenocereus pruinosus*)

ID: 73

XLIII Encuentro Nacional de la AMIDIQ  
Puerto Vallarta, Jal., México. 23 al 26 de agosto de 2022

  
Dr. Jorge Ramón Robledo Ortiz  
PRESIDENTE DE LA AMIDIQ Y DEL COMITÉ ORGANIZADOR

  
Dr. Tomás Viveros García  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO



## OBTENCIÓN DE PIGMENTOS MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE JUGO HIDROLIZADO DE PITAYA ROJA (*Stenocereus pruinosus*)

Oscar Jiménez-González, Julio Emmanuel González-Pérez, José Ángel Guerrero-Beltrán

**UDLAP**

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda de Santa Catarina Mártir, C.P. 72810, San Andrés Cholula, Puebla, México. [angel.guerrero@udlap.mx](mailto:angel.guerrero@udlap.mx)

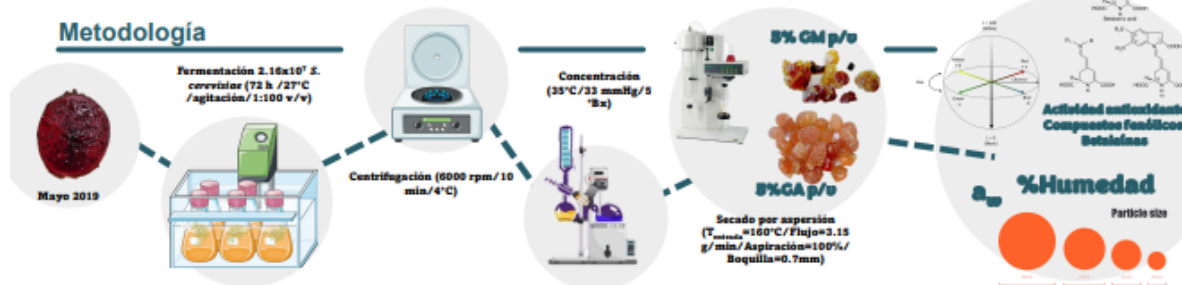
### Introducción

La pitaya (*Stenocereus pruinosus*) es un fruto mexicano de pulpa jugosa (blanco, amarillo, rosa, naranja, rojo o morado) [1]. Alto en compuestos antioxidantes como las betalainas, entre otros. Altamente perecedero, lo que limita su consumo [2]. Por otro lado, la encapsulación ha mostrado aumentar la estabilidad de los pigmentos. El secado por aspersión es un método simple para obtener materiales encapsulados. Sin embargo, las características mucilaginosas de la pitaya dificultan la obtención de los pigmentos microencapsulados. En este sentido, la fermentación ayuda a la hidrólisis del mucílago en el jugo, facilitando su encapsulación [3]. Además, ya que la adición de agentes encapsulantes es indispensable para la obtención de polvos. Destaca la goma arábiga (GA) y por su similitud, la goma de mezquite (GM) puede ser un buen agente encapsulante para su uso en la industria alimentaria [4].

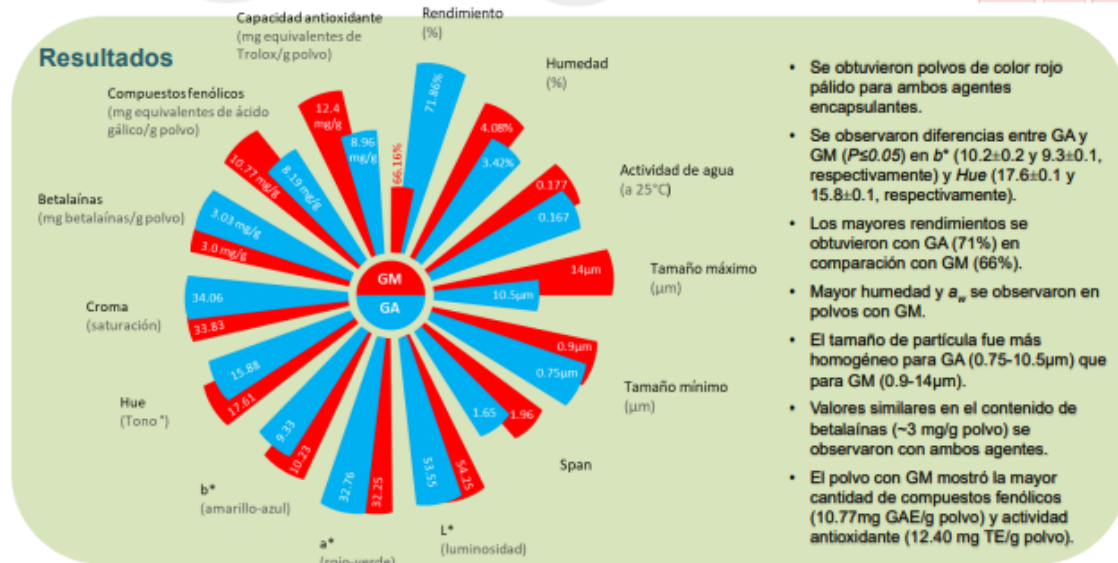
### Objetivo

Comparar el uso de GA y GM como agentes encapsulantes de jugo de pitaya obtenido mediante fermentación en términos de la retención de color, compuestos bioactivos y algunas propiedades físicas del polvo.

### Metodología



### Resultados



- Se obtuvieron polvos de color rojo pálido para ambos agentes encapsulantes.
- Se observaron diferencias entre GA y GM ( $P \leq 0.05$ ) en  $b^*$  ( $10.2 \pm 0.2$  y  $9.3 \pm 0.1$ , respectivamente) y  $Hue$  ( $17.6 \pm 0.1$  y  $15.8 \pm 0.1$ , respectivamente).
- Los mayores rendimientos se obtuvieron con GA (71%) en comparación con GM (66%).
- Mayor humedad y  $a_w$  se observaron en polvos con GM.
- El tamaño de partícula fue más homogéneo para GA (0.75-10.5µm) que para GM (0.9-14µm).
- Valores similares en el contenido de betalainas (~3 mg/g polvo) se observaron con ambos agentes.
- El polvo con GM mostró la mayor cantidad de compuestos fenólicos (10.77mg GAE/g polvo) y actividad antioxidante (12.40 mg TE/g polvo).

### Conclusiones

Ambos agentes son útiles para la obtención de pigmentos microencapsulados con buenos rendimientos y colores similares. Los polvos con GM retienen mayor cantidad de compuestos bioactivos. Los polvos (con tonalidad roja) obtenidos podrían ser incorporados en productos alimenticios y reemplazar colorantes artificiales.

Figura 1. Rendimiento, propiedades físicas, de color y bioactivas de los polvos obtenidos de jugo de pitaya fermentado (*Stenocereus pruinosus*). Goma de mesquite (GM), goma arábiga (GA).

#### Referencias

- García-Cruz, L., Dacías, M., Santos-Buelga, C., Vello-Guadarrama, S., & Salinas-Moreno, Y. Food Chem, 234, (2017), 111-118.
- Osuna-Vidales, C. E., & Guerrero Beltrán, J. A. J. Food Eng., 117(1), (2013), 34-41.
- Santos, D., Mastricio, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H., & Gomes, P. S. Biomaterials—Physics and Chemistry—New Edition. InTech. (2018).
- Jiménez-González, O., & Guerrero-Beltrán, J. A. Food Eng. Rev., 13(4), (2021), 769-811.

Los polvos con GM retienen mayor cantidad de compuestos bioactivos. Los polvos (con tonalidad roja) obtenidos podrían ser incorporados en productos alimenticios y reemplazar colorantes artificiales.

#### Agradecimientos

El autor Jiménez-González, agradece el apoyo para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al consejo de Ciencia y Tecnología CONACYT.

# AMIDIQ

Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.



XLIII Encuentro Nacional de la AMIDIQ  
"La Ingeniería Química,  
la Sostenibilidad y la Economía Circular"

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia  
en Ingeniería Química A.C.

otorga el presente

## RECONOCIMIENTO

a:

**Julio Emmanuel González-Pérez, Oscar Jiménez-González, Nelly Ramírez-Corona, Aurelio López-Malo**


**Por la presentación del trabajo en modalidad cartel:**

**DETERMINACIÓN DE LOS COEFICIENTE DE DIFUSIVIDAD DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN LA  
OSMOSHIDRATACIÓN DE MANZANA CON JUGO DE UVA**

ID: 88

XLIII Encuentro Nacional de la AMIDIQ

Puerto Vallarta, Jal., México. 23 al 26 de agosto de 2022

  
Dr. Jorge Ramón Robledo Ortiz  
PRESIDENTE DE LA AMIDIQ Y DEL COMITÉ ORGANIZADOR

  
Dr. Tomás Viveros García  
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO

**UDLAP** | UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

## Determinación de los coeficiente de difusividad de compuestos bioactivos en la osmodeshidratación de manzana con jugo de uva

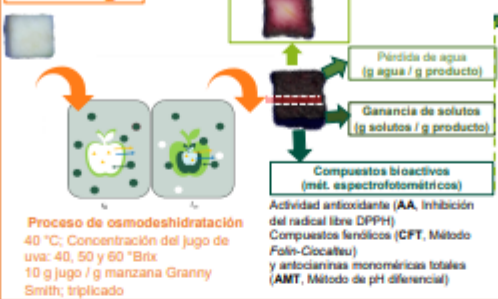
González-Pérez, Julio E. Jiménez-González, Oscar, Ramírez-Corona, Nelly, López-Malo, Aurelio\* aurelio.lopezm@udlap.mx

**Introducción**

Uno de los métodos para la elaboración de alimentos funcionales a base de frutas es utilizar la osmodeshidratación. Este proceso de transferencia de masa ocurre cuando una matriz sólida sumergida en una solución hipertónica gana solutos y pierde agua mediante difusión [1-3]. Dicha transferencia de masa ha sido modelada con la segunda ley de Fick. La mayoría de los estudios que utilizan la segunda ley de Fick describen únicamente la difusión de solutos y agua [2]; sin embargo, son muy pocos los que contemplan la transferencia de masa de los compuestos bioactivos [4], a pesar de la importancia que estos representan para el producto final.

El objetivo de este trabajo fue determinar los coeficientes de difusividad de compuestos bioactivos durante la osmodeshidratación de manzana sumergida en jugo de uva a diferentes concentraciones.

**Metodología**



Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Finalmente, se utilizó la solución analítica de Crane para determinar el coeficiente de transferencia de masa de cada componente analizado (agua, sólidos, AA, CFT y AMT) en una muestra cúbica:

$$\ln(V) = -\frac{D \cdot A}{L^2} t + \ln\left(\frac{V_0}{V}\right)$$

pendiente =  $-\frac{D \cdot A}{L^2}$  (1)  
considerando D, coeficiente de difusión (m<sup>2</sup>/s); L, la mitad del espesor de la muestra (m) y V como:  
 $V = 1 - \left(\frac{\text{Cantidad de sustancia al tiempo } t}{\text{Cantidad de sustancia al tiempo en equilibrio}}\right)$  (2)

**Resultados**

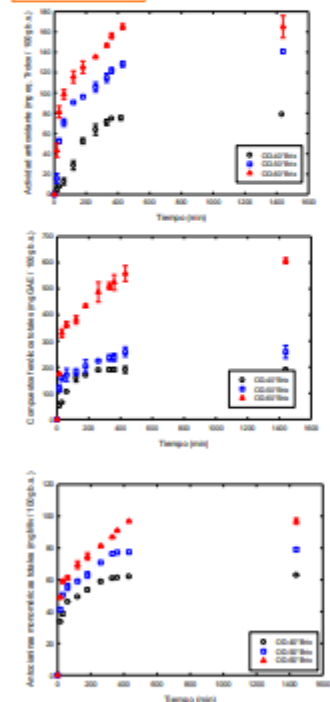


Figura 2. Evolución de la impregnación de AA, CFT y AMT en manzana durante el proceso de osmodeshidratación con jugo de uva.

**Conclusiones**

El modelo difusivo permitió describir adecuadamente la PA, GS, AA, CFT y AMT. Los valores de los parámetros de difusividad de AMT disminuyeron con el aumento de la concentración del agente osmótico. En el caso de las otras transferencias de masa analizadas se observó que las difusividades incrementaron por el aumento de la concentración.

**Agradecimientos**

El autor González-Pérez agradece el apoyo financiero para sus estudios de doctorado de la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México.

**Referencias**

1. Lemills, C. P., Vaidyanar, S. R., Alzamora, S. M., Muzgovci, M., Rodríguez, A. "Effect of the high-pressure assisted-infusion processing on nutritional and antioxidant properties of mango cubes". *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 71 (2021) 102725. 2. Szendrowska, K., Glaszon, L., Marzec, A., Kowalska, J., Piotrowski, D., Lewart, A., Kowalska, H. "The effect of adding berry fruit juice concentrates and by-product extract to sugar solution on osmotic dehydration and sensory properties of apples". *J. Food Sci. Technol.* 56 (2019) 1927-1936. 3. Maldonado, M., González Pacheco, J. "Mathematical modeling of mass transfer phenomena for sucrose and lactulose molecules during osmotic dehydration of cherries". *Heliyon* 8 (2022) e08788. 4. Shukla, A., Shukla, R. S., Das, C., Goud, V.V. "Gingerole infusion and multi-step process optimization for enhancement of color, sensory and functional profiles of candied mango". *Food Chem.* 300 (2019) 1-12.

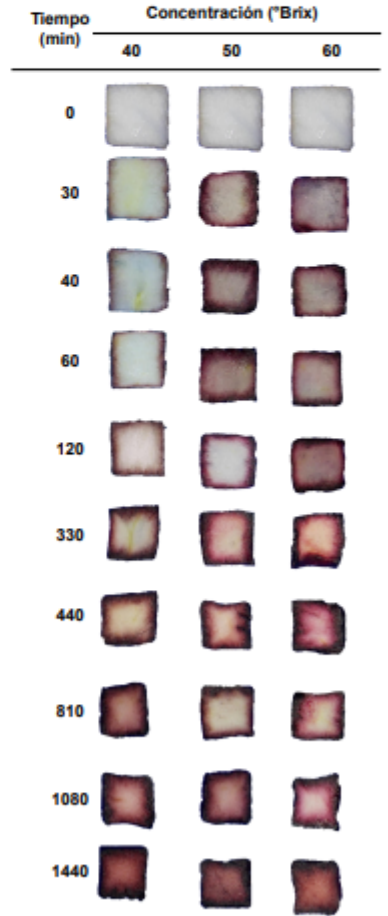


Figura 1. Evolución de la tinción del tejido de manzana durante el proceso de osmodeshidratación con jugo de uva.

Independientemente de la concentración, todas las muestras se tificaron por completo en el estado de equilibrio osmótico (p>0.05, Figura 1).


Únicamente los valores de D para antocianinas disminuyeron por el aumento de la concentración, esto puede deberse a la viscosidad de la mezcla, ya que entre mayor concentración mayor viscosidad, lo que impide la transferencia de moléculas de mayor tamaño como antocianinas-azúcar, a diferencia de otros compuestos fenólicos de menor tamaño. En el caso de los valores de D para agua, sólidos, AA y CFT mostraron un aumento debido al incremento de la concentración del agente osmótico. El incremento de la concentración de agente osmótico incrementó (p < 0,05) el tiempo de proceso debido a que la saturación del soluto impregnado sobre la superficie del producto redujo la velocidad de impregnación de solutos (Figura 2).

Tabla 1. Parámetros de transferencia de masa estimados


Componente analizado	C	Condición de equilibrio <sup>a</sup>	D × 10 <sup>10</sup> (m <sup>2</sup> / s) <sup>b</sup>	R <sup>2</sup>
Agua	40°Brix	0.44±0.15	2.82±0.32	0.949
	50°Brix	0.52±0.20	3.57±0.40	0.954
	60°Brix	0.65±0.02	4.53±0.48	0.963
Sólidos	40°Brix	0.082±0.006	0.48±0.05	0.884
	50°Brix	0.095±0.004	1.54±0.05	0.800
	60°Brix	0.105±0.003	2.26±0.08	0.800
Actividad Antioxidante	40°Brix	129.9±11.5	1.31±0.71	0.800
	50°Brix	130.3±6.7	2.93±0.62	0.837
	60°Brix	146.5±8.9	3.82±0.10	0.883
Compuestos Fenólicos Totales	40°Brix	190.2±1.1	2.79±0.70	0.858
	50°Brix	258.4±40.6	3.10±0.20	0.898
	60°Brix	606.9±101.7	3.46±0.10	0.826
Antocianinas Monoméricas Totales	40°Brix	62.8±4.4	6.85±0.50	0.987
	50°Brix	79.1±8.8	5.91±0.80	0.961
	60°Brix	96.8±0.0	4.29±0.80	0.948


<sup>a</sup>PAe (g/g), GSe (g/g), AAe (mg equivalentes de Trolox/ 100g b.s.), CDEt (mg equivalentes de ácido gálico/ 100g b.s.), AMTe (mg equivalentes de malvidina-3,5-diglicósido/100g b.s.). <sup>b</sup> Desviación estándar considerando un intervalo de confianza del 95%.





10th Food Science, Biotechnology & Safety Congress





## Optimization of the vacuum impregnation of beta-carotene in jicama with carrot juice

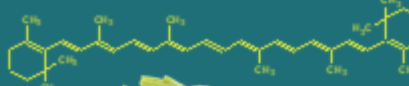
González-Pérez, J.E.<sup>1\*</sup>, Jiménez-González, O.<sup>1</sup>, Ramírez-Corona, N.<sup>1</sup>, López-Malo, A.<sup>1</sup>

<sup>1\*</sup>Dpto. de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, Mexico. Email: name@organization.com

---

### INTRODUCTION

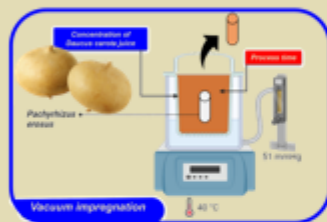
Carotenoid consumption has been shown to prevent and decrease certain types of cancer and cardiovascular and degenerative diseases [1]. Recently, alternatives for consuming foods rich in carotenoids have been sought [2].



### OBJECTIVE

This study aimed to evaluate the effect of vacuum pressure, processing time, and concentration of carrot juice concentrate on the quality of jicama impregnation using response surface methodology to maximize  $\beta$ -carotene from carrot (*Daucus carota*) juice concentrate into jicama (*Pachyrhizus erosus*) cylinders through vacuum impregnation.

### MATERIALS AND METHODS



Concentration of carrot juice concentrate, Vacuum impregnation, 40 °C, 5 l impregnation, Maximizing  $\beta$ -carotene impregnation.

### RESULTS AND DISCUSSION

The polynomial equations (PE, Table 1) obtained to describe SG, WL (Figure 1), aw (Figure 2), TSS (Figure 3), and TC (Figure 4) of the product had  $R^2 > 0.85$ .

Increasing the C factor (concentration) increased the values ( $p < 0.05$ ) of SG, TC, and TSS and decreased ( $p < 0.05$ ) the values of WL and aw.

The PE of the analyzed responses include a quadratic effect ( $p < 0.05$ ) of the process time, probably due to the saturation of solutes on the product surface.

The optimum conditions were  $t=32$  min and  $50^\circ\text{Brix}$ . At these conditions, the impregnated jicama reached a value of  $269 \mu\text{g } \beta\text{-carotene} / 100\text{g dry basis}$ ,  $19.3^\circ\text{Brix}$ , and  $\text{aw}=0.943$ .

This amount provides the  $\sim 30\%$  of minimum recommended percentage of daily carotenoid intake requirements for adults [3].

### CONCLUSION

It was possible to incorporate carotenoids in jicama by optimizing the vacuum impregnation conditions; however, a drying treatment is necessary to increase the shelf life of the product obtained.

Model	$R^2$	No lack
$M_b = 1.353 - 0.031 t - 0.0035 C + 0.0005 t^2$	0.846	0.35
$WR = -1.471 + 0.087 t + 0.024 C - 0.0014 t^2 - 0.0002 C^2 + 9.6 \times 10^{-4} t \cdot C$	0.986	0.28
$WL = -1.453 + 0.083 t + 0.025 C - 0.0015 t^2 - 0.0002 C^2 + 7.6 \times 10^{-4} t \cdot C$	0.984	0.43
$SG = 0.075 - 0.001 t$	0.733	0
$a_w = 1.043 - 0.0055 t + 0.001 C + 0.0001 t^2 - 0.00002 C^2 - 2 \times 10^{-4} t \cdot C$	0.798	0.23
$TSS = -44.70 + 2.801 t + 0.835 C - 0.0455 t^2 - 0.00836 C^2 + 1 \times 10^{-4} t \cdot C$	0.856	0.58
$TC = -0.006 + 0.0003 t + 0.0001 C - 6 \times 10^{-4} t^2 - 0.000001 C^2 + 1 \times 10^{-4} t \cdot C$	0.891	0.33

Parameters in bold have a significant ( $p \leq 0.05$ ) effect on  $M_b$ , moisture fraction (g/g); WR, weight reduction (g/g); WL, water loss (g/g); SG, solute gain (g/g);  $a_w$ , water activity; TSS, total soluble solids ( $^\circ\text{Brix}$ ) and TC, total carotenoids (mg  $\beta$ -carotene / 100g d.h.)

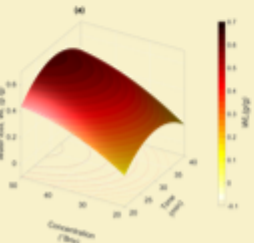
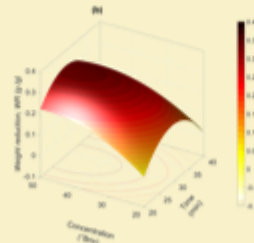


Figure 1. Time-concentration interaction (t-C) effect on (a) water, and (b) weight reduction of jicama cylinders impregnated with carrot juice concentrate.



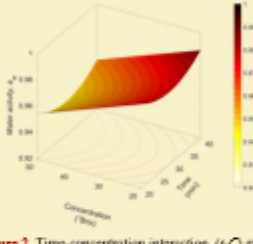


Figure 2. Time-concentration interaction (t-C) effect on water activity of jicama cylinders impregnated with carrot juice concentrate.

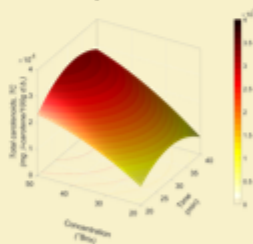


Figure 3. Time-concentration interaction (t-C) effect on total soluble solids of jicama cylinders impregnated with carrot juice concentrate.

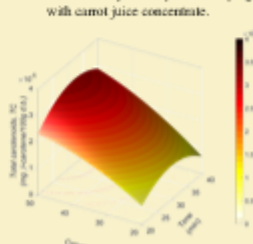


Figure 4. Time-concentration interaction (t-C) effect on total carotenoids of jicama cylinders impregnated with carrot juice concentrate.

### REFERENCES

- Stinco, et al., 2016. Journal of Food Composition and Analysis Bioaccessibility, 70, 24– 22.
- Meléndez-Martínez et al., 2021. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 62, 1999–2049.
- Santana-Noriega et al. 2018. Journal of Food Process Preserv, 42, e13545.

### Acknowledgments

Authors Jiménez-González thanks to Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and the National Council for Science and Technology (CONACYT) of Mexico for the financial support for their Ph.D. studies.









## Prediction of perceived color changes ( $\Delta E$ ) of a natural colorant from *Justicia spicigera* by using probabilistic and Time-to-Fail models

Jiménez-González, O.<sup>1\*</sup>, González-Pérez, J.<sup>1</sup>, López-Malo, A.<sup>1</sup>, Ramírez-Corona, N., Guerrero-Beltrán, J.A.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, México. Email: oscar.jimenezg@udlap.mx

**Introduction**

*Justicia spicigera* leaves have been used since pre-Hispanic times for coloring fabrics, codices, murals, crafts [1].

Leaves decoction generates a violet color because anthocyanins' presence and change color due to pH [2,3].

Recently, *J. spicigera* pigments have been used as a colorant in corn tortillas, yogurt, and jellies [4,5].

Survival analysis could accurately establish the time when a product is rejected. Probabilistic models estimate the probability of acceptance/rejection based on the time to reach a certain value [6].

### Objective

This study aimed to model the Time-to-Fail (TTF) of *J. spicigera* pigments during heating at different temperatures and pH levels, according to the change in color ( $\Delta E$ ), and the probability of its occurrence.

### Materials and Methods

**Pigment extraction**  
 Maceration of dry leaves 0.3g: 25mL ethanol ratio/2h; centrifugation 450 rpm/ 4°C/ 15 min; rotatory evaporator concentration 45°C/ 54 mmHg until 1/3 of initial volume

**Lyophilization**  
 Liquid concentrated pigment + MDX (5K); frozen -80°C/ 24h; lyophilized 0.133 mmHg/ 48 h; grinded

**pH adjust**  
 0.01 or 0.002 g/mL dispersed in McIlvaine buffer at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 pH (citric acid 0.01M or NaOH 1M) in sealed tubes

**Heat treatment**  
 Solutions were heated at 40, 60 or 80°C during 8h, taking samples every hour

**Color determination**  
 Determined spectrophotometrically [7]. Converted to L\*, a\* and b\*

**Time-to-Fail (TTF) and probabilistic modeling**  
 TTF and probabilistic was modeled using classified values: 1 or F when  $\Delta E > 4$  and 0 or C when no changes were observed.

$$E_n(TTF) = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 Y + \beta_3 XY + \beta_4 X^2 + \beta_5 Y^2$$

$$f(x) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_1 x_2 + \beta_4 x_1^2 x_2 + \beta_5 x_1 x_2^2$$

$$F(x) = \frac{\exp(f(x))}{1 + \exp(f(x))} \quad \ln\left(\frac{F(x)}{1 - F(x)}\right) = f(x)$$

### Results and Discussion

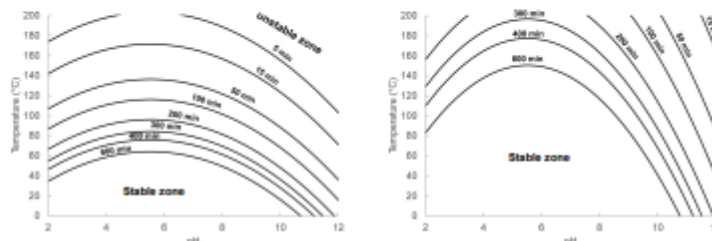


Figure 1. Time to color fail at different pH, temperatures and concentration

Both TTF ( $R^2=0.800$ ) and probabilistic models accurately predicted the color changes.

Failure time decreases with increasing pH, especially at 80°C; the neutral pH region is the most stable region regardless of temperature (Figure 1).

pH 4 to 8 requires at least 600 min at 50°C to exhibit a  $\Delta E > 4$ .

With decreasing in colorant concentration, the changes are less noticeable.

Increasing temperature, the time to present a color change decreases.

The same trend is observed in the probabilistic model; high pH values and temperatures increase the probability of presenting  $\Delta E > 4$  (Figure 2).

While near to neutral pH region, it is less probable to colorant fail.

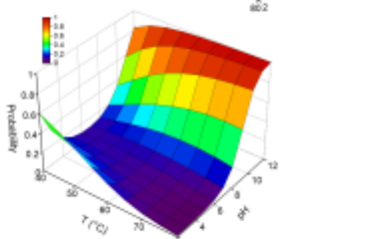


Figure 2. Probability of color loss or  $\Delta E$  change, at different pH, temperature and concentration

### Conclusion

TTF and probabilistic models allowed to predict an ingredient's behavior like colorants during the thermal process.

### Acknowledgments

Authors Jiménez-González thanks to Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) and the National Council for Science and Technology (CONACYT) of Mexico for the financial support for their Ph.D. studies.

### References

[1] Baqueiro-Peña et al., 2017. Food Chemistry, 218, 305-312. [2] Awad et al., 2015. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7, 91-96. [3] Khoo et al., 2017. Food & Nutrition Research, 61, 1361779. [4] Alvarez-Poblano et al., LWT, 133, 110120. [5] Castro-Alatorre et al., 2021. Foods, 10, 1-16. [6] Kosegarten et al., 2022. Journal of Food Processing and Preservation, e16548. [7] APHA. (American Public Health Association) et al., (1992). American Public Health Association.

# UDLAP<sup>®</sup>

**Universidad de las Américas Puebla**

a través del Decanato y la Dirección de Investigación y Posgrado,  
otorga la presente constancia a

**Oscar Jiménez González**

por su participación en el  
4<sup>o</sup> Coloquio Tecnología, Ciencia y  
Cultura: una visión global

  
**Dr. Martín Alejandro Serrano Meneses**  
Decano de Investigación y Posgrado

  
**Dr. Luis Ricardo Hernández**  
Director de Investigación y Posgrado

Otorgado en la Ex hacienda Santa Catarina Mártir, San Andrés Cholula, Puebla, a los diecinueve días del mes de noviembre de dos mil veintiuno.

## Deep eutectic solvents: a promising technique to anthocyanin extraction for food coloring agents

Oscar Jiménez-González, Nelly Ramírez-Corona and José Á. Guerrero-Beltrán

