



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA

Centro Interdisciplinario de Decanato de Ciencias Biológicas Facultad de
Biotecnología

Doctorado en Biotecnología
TESIS

Tamarillo (*Cyphomandra betacea*) como alimento funcional: actividad
prebiótica y antioxidante

Para obtener el título de:
DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

M. en C. Veronica Reyes García

Directora

Dra. Beatriz Pérez Armendáriz

Co-Director

Dr. Alfonso Totosaus Sánchez

Asesores

Dra. Zaida Nelly Juárez

Dr. Gabriel A. Cardoso Ugarte

Dra. María de Lourdes Meza Jiménez

Puebla, México. 2022



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

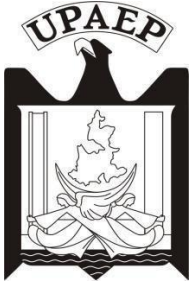
DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla
Centro Interdisciplinario de Posgrados e Investigación
Departamento de Ciencias Biológicas
Doctorado en Biotecnología

SE APRUEBA LA TESIS:

Tamarillo (*Cyphomandra betacea*) como alimento funcional: actividad prebiótica y antioxidante

Del alumno: Veronica Reyes García

Comité Asesor

Dra. Beatriz Pérez Armendáriz
Director de Tesis

Dr. Alfonso Totosaus Sánchez
Co-director

Dra. Zaida Nelly Juárez
Asesor

Dr. Gabriel Abraham Cardoso Ugarte
Asesor

Dra. María de Lourdes Meza Jiménez
Asesor externo

Puebla, México

05 de Abril de 2022

Tabla de contenido

CAPÍTULO I.....	11
1.1 Introducción.....	11
1.2 Antecedentes.....	14
1.3 Problemática.....	18
1.4 Justificación.....	19
1.5 Objetivos.....	20
1.5.1 Objetivo general.....	20
1.5.1 Objetivos específicos.....	21
1.6 Hipótesis.....	21
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	22
2.1 Nutraceuticos.....	22
2.2 Alimentos Funcionales.....	22
2.3 Relación estructura y función.....	23
2.4 Prebióticos.....	25
2.5 Pectina.....	26
2.6 Propiedades de las frutas y vegetales.....	27
2.7 Diferentes tipos de compuestos polifenólicos y efectos en salud.....	30
2.8 Composición química y nutricional del Tamarillo (<i>Cyphomandra betacea</i>).....	33
2.9 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante del Tamarillo.....	36
2.10 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.....	39
2.10.1 Espectroscopía ultravioleta visible (UV).....	39
2.10.2 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear RMN.....	40
2.11 Microencapsulación.....	40
2.12 Secado por aspersión.....	41
CAPÍTULO III.....	43
3.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.2 Fase I.....	43
3.2.1 Herborización de <i>C. betacea</i>	43
3.2.2 Preparación de las muestras.....	43
3.2.3 Preparación de extractos etanólicos.....	44
3.2.4 Análisis bromatológicos.....	45
3.2.5 Fibra dietaria total.....	45
3.2.6 Actividad antioxidante.....	46
3.3 Fase II.....	47

3.3.1	Métodos Espectroscópicos	47
3.4	Fase III.....	50
3.4.1	Materia prima y preparación de solución de <i>C. betacea</i>	50
3.4.2	Inoculación de bacterias ácido lácticas en los jugos de <i>C. betacea</i>	51
3.4.3	Secado de las cápsulas del jugo de <i>C. betacea</i> , para la obtención de microcápsulas secados por atomización.....	52
3.4.4	Evaluación de supervivencia de las BAL con potencial probiótico encapsulados durante el almacenamiento en refrigeración.....	53
3.4.5	Eficiencia de encapsulación (EE %) de los tratamientos de <i>C. betacea</i>	53
3.4.6	Viabilidad de las BAL encapsuladas, bajo condiciones gastrointestinales simuladas.	53
3.4.7	Actividad antioxidante de los microencapsulados de <i>C. betacea</i>	54
3.4.8	Determinación de inhibición del radical DPPH, 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo, de los encapsulados de <i>C. betacea</i>	55
3.4.9	Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados de <i>C. betacea</i>	56
3.4.10	Color en la escala CIE L* a* b*	56
3.4.11	Actividad de agua (a_w).....	57
3.4.12	Humedad.....	57
3.4.13	Propiedades de flujo	58
3.4.14	Densidad aparente.....	58
3.4.15	Densidad compactada.	58
3.4.16	Índice de Hausner	59
3.4.17	Compresibilidad.....	59
3.4.18	Propiedades de reconstitución	60
3.4.19	Análisis microestructural de los microencapsulados de los tratamientos de <i>C. betacea</i>	61
CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión		63
4.1	Fase I.....	63
4.1.1	Análisis Bromatológicos.....	63
4.1.2	Actividad antioxidante.....	65
4.1.3	Compuestos fitoquímicos	66
4.2	Fase II	68
4.2.1	Métodos Espectroscópicos	68
4.2.2	Puntaje de crecimiento bacteriano y actividad prebiótica	72
4.3	Fase III.....	75
4.3.1	Procesos de los jugos de <i>C. betacea</i> , para la obtención de microcápsulas secados	

por atomización	75
4.3.2 Evaluación de supervivencia de las BAL con potencial probiótico encapsulados durante el almacenamiento en refrigeración.....	78
4.3.3 Supervivencia de (BAL) encapsuladas, bajo condiciones simuladas gastrointestinales in vitro.....	81
4.3.4 Evaluación de actividad antioxidante de los microencapsulados de <i>C. betacea</i> y bajo condiciones gastrointestinales simuladas.	83
4.3.5 Inhibición del radical DPPH de los encapsulados de <i>C. betacea</i>	84
4.3.6 Caracterización fisicoquímica de los microcápsulados de <i>C. betacea</i>	86
4.3.7 Análisis microestructural de los microencapsulados de los tratamientos de <i>C. betacea</i> 90	
4.3.8 Análisis sensorial del polvo (microcápsulas) de bebidas reconstituidas del jugo de <i>C. betacea</i>	92
CONCLUSIONES	93
ANEXOS.....	94
BIBLIOGRAFIA	96

Índice de tablas

Tabla 1. 1 Inclusión de probióticos en alimentos vegetales	17
Tabla 2. 1 Nutracéuticos más comunes	22
Tabla 2. 2 Clasificación de carbohidratos no digeribles.....	25
Tabla 2. 3 Efectos fisiológicos	27
Tabla 2. 4 Caracterización física y química de pulpa madura de tomate de árbol g/100g, reportado en peso seco.....	35
Tabla 2. 5 Contenido de minerales y bioaccesibilidad de calcio y hierro en pulpa madura de tomate de árbol (reportado en peso fresco)	36
Tabla 2. 6 Compuestos bioactivos en pulpa madura de tomate de árbol Parámetro (reportado sobre peso fresco).	36
Tabla 2. 7 Se presentan algunos compuestos bioactivos de <i>C. betacea</i>	38
Tabla 3. 1 Proporciones de las bebidas con <i>C. betacea</i> , por ajuste de °Bx-MD.	51
Tabla 3. 2 Condiciones de atomización, para los tratamientos de las bebidas con <i>C. betacea</i>	52
Tabla 4. 1 Composición bromatológica de Tamarillo pulpa y cáscara *Fibra dietaria total, contenido total de polifenoles y propiedades antioxidantes de FPF.....	64
Tabla 4. 2 Compuestos fitoquímicos de <i>C. betacea</i> *	67
Tabla 4. 3 Actividad prebiótica de <i>C. betacea</i>	74
Tabla 4. 4 Sustrato/Harina <i>C. betacea</i>	75
Tabla 4. 5 Evaluación de supervivencia de BAL encapsuladas (Log N UFC/g), durante su almacenamiento en refrigeración a 4 °C y EE %.	80

Tabla 4. 6 Evaluación de BAL encapsulados (Log N UFC/g) de <i>C. betacea</i> , bajo condiciones de simulación digestiva.	83
Tabla 4. 7 Concentración de fenólicos (mgGAE/100g), en los encapsulados de <i>C. betacea</i> , durante las distintas fases de simulación gastrointestinal.....	84
Tabla 4. 8 Porcentaje de inhibición de encapsulados de <i>C. betacea</i> , bajo condiciones de simulación digestiva.	85
Tabla 4. 9 Propiedades de flujo y de reconstitución de los encapsulados de <i>C. betacea</i>	87
Tabla 4. 10 Parámetros fisicoquímicos de los encápsulados de <i>C. betacea</i>	89
Tabla 4. 11 Atributos de color de los encapsulados de <i>C. betacea</i>	89
Tabla 4. 12 Análisis sensorial de las bebidas reconstituidas de <i>C. betacea</i> , usando escala hedónica de 9 puntos.	92

Índice de Figuras

Figura 2. 1 Bioactividades de las frutas silvestres, adaptada de (Y. Li et al., 2016a).	30
Figura 2. 2 Ruta biosintética de los polifenoles (Quiñones et al., 2012).....	31
Figura 2. 3 Metabolismo de compuestos polifenólicos de alimentos sólidos y bebidas. Adaptado de Arranz et al. (2009)	33
Figura 2. 4 Fruta variedad roja de <i>C. betacea</i> , madura (a), fruta verde (b) y flor de la fruta (c), colectada en la Sierra Nororiental del Estado de Puebla.....	35
Figura 3. 1 Plan de Investigación de acuerdo a las fases.....	43
Figura 4. 1 FTIR Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa liofilizada y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.	69
Figura 4. 2 UV Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa liofilizada y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.	70
Figura 4. 3 1H RMN Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa liofilizada y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.	71
Figura 4. 4 IR y 1HRMN Espectro de Inulina * a) IR b) 1HRMN, 400.13 MHz, TMS como estándar interno.....	72
Figura 4. 5 Diagrama de flujo para la obtención de los encapsulados a partir de las bebidas de <i>C. betacea</i>	76
Figura 4. 6 Viabilidad de BAL encapsuladas (Log N UFC/g), durante su almacenamiento en refrigeración a 4 °C.....	81
Figura 4. 7 Porcentaje de inhibición del radical DPPH de los encapsulados de <i>C. betacea</i> , bajo condiciones de simulación digestiva.	86
Figura 4. 8 Micrografías proporción °Bx-MD 1:4 polvos del jugo (bebida) de <i>C. betacea</i> atomizados. (T1=150 °C) y (T2=160 °C).....	91
Figura 4. 9 Micrografías proporción °Bx-MD 1:3 polvos del jugo (bebida) de <i>C. betacea</i> atomizados. (T7=150 °C) y (T8=160 °C).....	91

DEDICATORIA

A Dios
A mis padres y hermanos
A mi esposo e hijos

A mi familia, principalmente a mis padres por estar siempre en todo momento apoyándome con todo su amor y perseverancia durante todo este camino, por escucharme y por ser parte de cada paso en mi vida personal y profesional.

Mi motor y fortaleza, mis hijos (a), gracias por su paciencia y apoyo incondicional, son y serán mi fuente de motivación e inspiración, los abrazos, las risas y su amor son mí soporte, los amo.

Y a ti, Eliud, te dedico las últimas líneas porque este trabajo ha sido compartido contigo desde el principio y no hubiera sido posible sin tu comprensión y tus constantes ánimos, gracias, eres mi pilar y fortaleza, te amo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por no dejarme sola, pero, sobre todo, nunca permitir que me rindiera, por siempre iluminar mis pasos, por la fuerza y voluntad para alcanzar mis metas.

Agradezco infinitamente a Prodep, por la beca doctoral otorgada, y al TecNM/ITAT por la Licencia Beca-Comisión.

A todos los investigadores externos, que fueron guías en este proceso de investigación, además de ser excelentes seres humanos, por compartir sus experiencias profesionales, por dar lo mejor de ustedes en todo momento y permitirme estar en sus centros de investigación, quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento.

A la Dra. Bety mi directora de Tesis, por la confianza y apoyo incondicional, siempre brindándome su tiempo y sus asesorías; a mi Co-director Dr. Alfonso Totosaus, que siempre se mostró atento y servicial para apoyarme en el proceso y desarrollo de la tesis y a mi comité tutorial, mi reconocimiento a cada uno de ustedes por apoyarme en el proceso de esta etapa de mi vida profesional, sin duda alguna, siempre mostraron compromiso y profesionalismo, deseo para ustedes éxito y bendiciones.

A mis compañeras de posgrado, en especial a Mirós, Anita y Anahí, por compartir su conocimiento, escucharme y por los ánimos de aliento para continuar en este proceso, con alegrías y tristezas, gracias un gusto coincidir con ustedes.

“El tiempo es el mejor autor, siempre encuentra el final perfecto”.

Charles Chaplin

Resumen: Tamarillo (*Cyphomandra betacea*) como alimento funcional: actividad prebiótica y antioxidante

Cyphomandra betacea (*C. betacea*) es una fruta considerada como un alimento funcional debido a las evidencias científicas relacionadas a las propiedades biológicas y beneficios a la salud asociadas a sus compuestos bioactivos. En esta investigación, se realizó un análisis bromatológico, actividad antioxidante y capacidad antioxidante de *C. betacea*; además, se llevaron a cabo pruebas cualitativas fitoquímicas e identificación de estructuras químicas por métodos espectroscópicos (IR, UV, RMN), por último, se determinó su efecto prebiótico en ensayos *in vitro* con bacterias ácido lácticas (BAL), *L. casei*, *L. plantarum* y *L. paracasei*. La presencia de carbohidratos totales en pulpa y cáscara fue de 61.3 y 20.5 % respectivamente y cenizas de 1.1% asociado a la presencia de minerales. En los extractos de pulpa los compuestos fenólicos totales (TPC) fue de 206.23 mg/100g peso seco y actividad antioxidante ABTS, de 6.27 μmol y en DPPH el % AA de 91.74 a una concentración de 250.00 $\mu\text{g/mL}$, mostró un IC_{50} de 131.26 $\mu\text{g/mL}$, siendo menor que el control (ácido ascórbico), con un IC_{50} de 780.60 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando su potencial de actividad antioxidante que se asocia a la presencia de TPC. En las pruebas fitoquímicas, se observó la presencia tanto en pulpa como en cáscara, flavonoides, triterpenos, taninos, glucósidos cardiotónicos, lactonas sesquiterpénicas y saponinas. En la actividad prebiótica, la harina de pulpa mostró tener actividad prebiótica significativamente mayor a la harina de cáscara ($p < 0.0001$), teniendo valores de 1.49 y 1.30 respectivamente con *L. plantarum*. Los espectros obtenidos en IR, UV y RMN, permitieron identificar sus estructuras químicas asociadas a los grupos funcionales de inulina. Además se obtuvieron encápsulados de los jugos de *C. betacea*, de las proporciones 1:4 y 1:3, realizados por ajuste de sólidos solubles con maltodextrina ($^{\circ}\text{Bx-MD}$), así como, la adición de BAL al 2 % de biomasa por cada 100 mL de jugo, fueron secados por aspersión a dos temperaturas de entrada (TE), de 150 $^{\circ}\text{C}$ y 160 $^{\circ}\text{C}$, se evaluó la viabilidad de las BAL encápsuladas y durante su almacenamiento a 4 $^{\circ}\text{C}$ antes del secado y después del secado a los días 0 y 35, también fueron evaluadas bajo condiciones gastrointestinales simuladas y su actividad antioxidante *in vitro*. Las condiciones de proceso permitieron que los encápsulados mostraran estabilidad en los parámetros fisicoquímicos para los tratamientos seleccionados acorde a las variables de respuesta del proceso, T1 con TE de 150 $^{\circ}\text{C}$ y T2 con TE de 160 $^{\circ}\text{C}$, proporción 1:4 y T7 con TE de 150 $^{\circ}\text{C}$ y T8 con TE de 160 $^{\circ}\text{C}$, proporción 1:3, estos tratamientos no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$), con referencia a la viabilidad de BAL al día 0, el conteo en todos los tratamientos T1-T6 de la proporción 1:4 $^{\circ}\text{Bx-MD}$, no muestran diferencia de conteos significativos ($p < 0.05$) de 10^8 UFC/g a 10^6 UFC/g y T7-T11 proporción 1:3 $^{\circ}\text{Bx-MD}$, si muestran diferencia significativa ($p < 0.05$), obteniendo viabilidad de 10^9 UFC/g y para el día 35 los tratamientos T1-T4 (1:4) con una viabilidad de 10^7 UFC/g y T7-T10 (1:3) reportando 10^8 UFC/g, no mostrarán diferencia significativa ($p < 0.05$), T5, T6 (1:4) y T11, T12 (1:3) si mostrarán diferencia significativa ($p < 0.05$) con 10^6 UFC/g, con referencia al porcentaje de eficiencia de encapsulación % EE, la proporción

1:3 mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto a la proporción 1:4.

En todos los tratamientos evaluados *in vitro*, bajo condiciones gastrointestinales de las proporciones 1:4 y 1:3 °Bx-MD, las cepas de *L. casei*, mostraron un ligero pero significativo ($p < 0.05$) mayor crecimiento que *L. plantarum*, lo que indica que, en las condiciones de encapsulación, *L. casei*, protegieron a la cepa al igual que a *L. plantarum*, no se vieron afectados por las condiciones de proceso de atomización, permitiendo la liberación de las cepas, en cada una fase de la simulación digestiva y además con las cantidades adecuadas por arriba de 10^7 UFC/g, por lo que, se asegura un efecto benéfico al consumidor (10^6 , 10^7 UFC/g) (FAO/OMS, 2002). Los encápsulados obtenidos por secado por aspersión de los jugos de las proporciones 1:4 y 1:3, no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$), en relación a los mg GAE/100g, presentes en 0.1 g de cápsula, lo mismo fue, para el porcentaje de inhibición, mostrando un porcentaje de liberación mayor en la fase gastrointestinal, podría atribuirse a la absorción de los antioxidantes en la fase. Posteriormente, se evaluó sensorialmente por escala hedónica de 9 puntos realizado por un panel de jueces no entrenados, mostrando una aceptabilidad general de 7, para las bebidas reconstituidas de las proporciones 1:4 y 1:3, lo que significa que gustó moderadamente. Finalmente se concluye que estos compuestos fenólicos y fibra dietaria, están disponibles para el ser humano y bacterias ácido lácticas para su absorción, mostrando beneficios en la salud y potencial como ingrediente funcional en el desarrollo de productos alimentarios, además de contribuir en los adelantos en el área de nuevas tendencias en el desarrollo e innovación en el ámbito alimentario.

Palabras clave: Tamarillo (*Cyphomandra betacea*); propiedades antioxidantes; ABTS; DPPH; FTIR; UV; H1NMR; actividad prebiótica, compuestos bioactivos, microcápsulas, simulación digestiva *in vitro*.

CAPÍTULO I

1.1 *Introducción*

Los alimentos funcionales son productos elaborados por la adición de nutraceuticos o por la eliminación de alguno dañino, un alimento funcional se refiere a un alimento convencional, que es parte de una dieta estándar en cantidades normales, además de aportar un valor nutritivo, es decir, son alimentos que promueven la salud, mediante un efecto fisiológico contribuyendo en la reducción de enfermedades crónicas (Younesi & Ayseli, 2015). El desarrollo de estos alimentos se da gracias a la incorporación por estos nutraceuticos o compuestos bioactivos, como; prebióticos, probióticos, péptidos bioactivos, carotenoides además de vitaminas, compuestos fenólicos y fitoestrógenos, ácidos grasos o lípidos estructurados en sistemas alimentarios (de Boer et al., 2016; Vieira da Silva et al., 2016).

Los probióticos son microorganismos benéficos vivos que se consumen en cantidades adecuadas y por otra parte los prebióticos (favorecen el crecimiento de estos microorganismos), los cuales generan un balance en la microbiota intestinal, disminuyendo el riesgo de diversas enfermedades gastrointestinales (Olveira & González-Molero, 2016). Los prebióticos (oligosacáridos y polisacáridos), son ingredientes no digeribles que forman parte de los alimentos disponibles para la fermentación, promoviendo la estimulación del crecimiento y actividad de las bacterias ácido lácticas en el colon (Azevedo et al., 2016). Se ha estudiado que potenciar la asociación de estos compuestos bioactivos funcionales (probióticos y prebióticos), origina un efecto simbiótico o sinergia (Reis et al., 2016), siendo las bacterias ácido lácticas (BAL) de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* las más estudiadas (Ranadheera et al., 2010).

Por su parte, las frutas frescas se consumen ampliamente por su sabor, son matrices alimenticias con contenido de micronutrientes, antioxidantes y fibra con un potencial para el desarrollo de alimentos funcionales, por sus compuestos bioactivos, que ejercen efectos benéficos para la salud humana (Bernal Castro et al., 2017; Yahia, 2009). En el interés de encontrar fuentes de alimentos funcionales, se ha mostrado que *C. betacea*, posee diversos compuestos bioactivos, esta especie vegetal pertenece a la familia *Solanácea* (Bohs, 1995), y es considerada una fruta exótica y endémica de la vertiente oriental de los Andes, específicamente Perú, Ecuador y Colombia (Prohens & Nuez, 2001). El fruto es de forma ovoide de 4-10 cm de largo y 3-5 cm de ancho; cáscara lisa, dura y un poco amarga, de color naranja, rojo profundo o casi púrpura, la pulpa tiene la misma variación en color como la piel, tiene numerosas semillas y son planas (Morton, 2013). Se cultiva en otros países de América Latina y en Nueva Zelanda, y ha sido introducida a otros países donde es cultivada a menor escala (Boyes & Strübi, 1997; Revelo, Pérez & Maila, 2011). La fruta *C. betacea* es llamada de diferentes maneras: tomate de árbol en Colombia y Ecuador; tomate de ají en España; tamarillo en Nueva Zelanda, Canadá, Brasil y Malasia; y tomate de árbol, monte o chulto en Argentina y Chile. Actualmente, sólo en tres países, Australia, Colombia, Nueva Zelanda, cultivan comercialmente el tamarillo (Diep et al., 2020). En México, *C. betacea*, es conocida como berenjena o granada y se encuentra aún de forma silvestre o traspatio, su recolecta es anual en otoño y se ubica en la Sierra Nororiental del Estado de Puebla, colindando con el Estado de Veracruz.

Se ha asociado a *C. betacea*, con alto contenido de antioxidantes como; polifenoles, antocianinas, carotenoides y vitaminas A, C, B6 y E, por lo que, su ingesta es recomendable, por sus características nutricionales (Ordóñez et al., 2005; Vasco et al., 2009); Se ha reportado como un cultivo de interés por su alto contenido de nutrientes entre

los que se destacan la presencia de fibra arriba de 4 g/100g, contribuyendo al 12 % de la ingesta diaria (ID), fructosa 1.6 g/100 g, sacarosa (2.4 g/100 g), vitamina B6 (0.58 mg/100g), vitamina E (1.8 mg/100g), minerales, con una mayor presencia de potasio, calcio, cobre, hierro, manganeso y magnesio (Vasco C, Ávila J. 2009 y Acosta-Quezada 2015), señalaron que el alto contenido de potasio es similar al del plátano, así mismo, también se reportó ácido gamma amino butírico y vitamina A (2475 IU/100g) por Lister et al.(2005). Además, existen evidencias científicas acerca de sus efectos fisiológicos debido a sus componentes bioactivos, relacionados a sus pigmentos naturales (de Rosso & Mercadante, 2007; Orqueda et al., 2017). La actividad prebiótica de *C. betacea* fue reportada por Gannasin et al. (2015) y mencionan las características químicas de la pulpa y el mucílago que recubre a la semilla de la fruta, identificando hidrocoloides como arabinogalactano proteína asociada a la pectina, así como polisacáridos hemicelulósicos, produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC), acetato y propionato como resultado de la fermentación *in vitro* de los hidrocoloides del mucílago y de la pulpa, respectivamente.

El objetivo de esta investigación fue realizar un análisis bromatológico, actividad antioxidante y capacidad antioxidante de *C. betacea* a través de pruebas cualitativas fitoquímicas e identificación de estructuras químicas por métodos espectroscópicos (IR, UV, RMN), así como determinar su efecto prebiótico en ensayos *in vitro*, con la finalidad de generar información científica y para generar un alimento funcional, promoviendo el consumo y producción en el Estado de Puebla, para apoyar a la economía local mediante el impulso del cultivo, producción y aplicación en la agroindustria.

1.2 Antecedentes

En la industria de alimentos la inclusión de cultivos probióticos se ha realizado tradicionalmente en productos lácteos (queso, yogur, helados, entre otros). Recientemente se han investigado productos alimenticios crudos como posibles sustratos para la producción de probióticos no lácteos (Martins et al., 2013; Perez et al., 2014; Yu et al., 2013). Los productos de origen vegetal, como las frutas, pueden considerarse sustratos ideales para los probióticos, ya que contienen nutrientes como vitaminas, minerales, carbohidratos, fibras y compuestos antioxidantes (Russo et al., 2014).

Además, en algunos de estos alimentos no contienen sustancias alergénicas, que están presentes en los productos lácteos y podrían restringir su consumo (Martínez *et al.*, 2015). Los productos mínimamente procesados, como las frutas y verduras, tienen un gran potencial de comercialización debido a la demanda de los consumidores de alimentos frescos y saludables (Oliveira et al., 2011) y la posibilidad de utilizar frutas frescas para transportar microorganismos probióticos está despertando un interés científico (Russo *et al.*, 2014). Según Sheehan et al. (2007), los microorganismos probióticos que se encuentran en los productos a base de frutas proporcionando un área prometedora para la exploración, especialmente debido a su capacidad para tolerar ambientes ácidos. Además, estos alimentos se consideran un factor importante que regula la colonización de probióticos en el tracto gastrointestinal. Por lo que, este tipo de alimentos pueden influir en el crecimiento, la supervivencia, la viabilidad y la funcionalidad de los probióticos, lo que determina su efectividad (Ranadheera et al., 2010).

Es decir, los probióticos deberían poder transportarse en matrices alimentarias que sean fácilmente aceptadas por el consumidor. Los jugos a base de frutas se están utilizando como portadores de bacterias probióticas (Antunes et al., 2013; Fonteles et al., 2012).

Igualmente el desarrollo de ensaladas de frutas que contienen microorganismos probióticos son una alternativa viable para los alimentos mínimamente procesados, así como los productos probióticos no lácteos, considerando la aceptabilidad y la practicidad ofrecidas a los consumidores que pueden comprar una variedad de frutas listas para comer que contengan probióticos. Las cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium lactis* son las más utilizadas en la formulación de nuevos productos probióticos de origen hortofrutícola (Shori, 2016).

Los vegetales son importantes, por su contenido de agua, vitaminas (vitamina C, vitaminas del grupo B, provitamina A, fibra dietaria, minerales y fitoquímicos significativos para la dieta humana y para los cultivos probióticos (Mosqueda-Melgar et al., 2012). En especial las bebidas de fruta se consideran como matrices para estos microorganismos, debido a las ventajas funcionales que presentan como el aporte de micronutrientes, contenido bajo de alérgenos y mayor digestibilidad (Vijaya Kumar et al., 2015).

Hoy en día existe una gran preocupación por el incremento de enfermedades, una de ellas por ejemplo es la obesidad, por lo que, se están considerando los beneficios de los probióticos en bebidas de fruta y/o vegetales en la prevención y el tratamiento de una serie de condiciones de salud, como alimentos alternativos (Shahidi & Alasalvar, 2016). La inclusión de estos ingredientes funcionales en alimentos de origen vegetal, puede ser una alternativa para aumentar el bajo consumo de frutas y hortalizas que actualmente está presente a nivel mundial, sobre todo en países en vías de desarrollo, según reporta la Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (Di Cagno & Coda, 2014) además de generar un

aprovechamiento tecnológico dentro de la cadena agroindustrial evitando pérdidas poscosecha.

Sin embargo, en la generación de estos productos vegetales, se deben considerar retos tecnológicos a nivel de viabilidad (vida útil del producto) y del impacto sensorial. La adición de probióticos, como se observa en la Tabla 1.1 en estos productos es más compleja que la formulación en los productos lácteos porque las bacterias necesitan protección de las condiciones ácidas en las bebidas a base de frutas y/o vegetales (Perricone et al., 2015). Sin embargo, algunos estudios recientes han demostrado que algunas cepas, como se muestra en la Tabla 1.1 son capaces de crecer y sobrevivir a niveles estables (densidad celular superior a 10^7 UFC/mL) en bebidas de fruta generando un aumento en el consumo como portadores de microorganismos probióticos (Lewandowski et al., 2015).

Tabla 1. 1 Inclusión de probióticos en alimentos vegetales

Alimento Vegetal	Probiótico	Tipo de producto	Efecto sensorial	Viabilidad	Condiciones de proceso (inclusión)	Referencia
Ananá, Naranja, Melocotón, Manzana.	<i>L. casei</i> LC-01 <i>L. casei</i> BGP 93	Bebidas (jugos) comerciales.	Los cambios sensoriales indicaron que la vida útil de jugo inoculado no excede 1 semana.	La viabilidad fue óptima con ananá, melocotón y manzana (10^8 UFC/mL), sólo el jugo de naranja afectó la proliferación de ambas cepas.	Se estabilizó el pH en un rango entre 3,34 a 4,28. Almacenamiento a 5°C durante 4 semanas.	Tymczyszyn E. <i>et al.</i> , (2011)
Manzana verde Naranja, Piña Frutos rojos	<i>L. reuteri</i> DSM 20016	Bebidas (jugos) comerciales	<i>L. reuteri</i> no ejerció ningún efecto negativo en los atributos sensoriales de los jugos en refrigeración	Los resultados sugieren que la viabilidad de <i>L. reuteri</i> fue afectada por el tipo de jugo, la bacteria sobrevivió en jugos piña, naranja y manzana, mientras que experimentó una fuerte reducción de jugos de frutos rojos (menor a (10^7 UFC/mL).	Se estabilizaron los rangos de pH y se evaluó el contenido de sólidos totales y de azúcares.	Perricone M, Corbo MR, Sinigaglia M, Speranza B, Bevilacqua A, (2014)
Piña, Naranja, Arándano	<i>L. salivarius</i> ssp, <i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> NFBC43338.	Bebidas (jugos) comerciales	No se evaluó el efecto sensorial, pero si el efecto a tratamientos térmicos (pasteurización).	Las cepas examinadas fueron viables durante más tiempo en el jugo de piña y en el de naranja en comparación con el de arándano. (10^7 UFC/mL).	Se ajustó el pH a 3,5, 4,5 y 5,0. Periodo de almacenamiento de 12 semanas a 4°C.	Sheehan <i>et al.</i> , 2007
Manzana	<i>B. animalis. subsp lactis</i> Bb-12	Jugo de manzana	ND	Mutagénesis UV y la posterior incubación en medio ácido lograron mejorar la estabilidad de la cepa (10^7 UFC/mL), al incluirla en la matriz.	El jugo se estabilizó a un pH 3.5	Saarela M, Alakomi H-L, Mättö J, Ahonen A-M, Tynkkynen (2011)
Melón	<i>L. casei</i> B-442	Jugo	ND	$8.93 \log$ UFC/mL	(20 h fermentación) 42 días de almacenamiento	Vidal Fonteles <i>et al.</i> , (2011)
Granada	<i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbruekii</i> y <i>L. plantarum</i>	Jugo	ND	$2.9-9 \times 10^8$, $3.07-9 \times 10^8$, $3.6-9 \times 10^8$ y $3.9-9 \times 10^8$ UFC/mL		Mousavi <i>et al.</i> (2011)
Piña fermentada	<i>L. casei</i> NRRL B-44	Jugo	ND	10^6 y 5.8×10^4 UFC mL		Costa <i>et al.</i> (2013)
Zanahoria	<i>L. paracasei</i> Lpc-37, <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. plantarum</i> Lp-115, <i>B. Lactis</i> 420, <i>B. Lactis</i> Bb-12, <i>B. bifidum</i> B7.1 y B3.2	Jugo	ND			Kun <i>et al.</i> , (2008), Nazzaro <i>et al.</i> (2008), Tamminen <i>et al.</i> (2013)
Tomate	<i>L. acidophilus</i> LA 39 <i>L. casei</i> A4	Jugo	ND	$1.0 - 9.0 \times 10^9$ UFC/mL	72 h de fermentación	Yoon <i>et al.</i> (2004)

Adaptada de: Shori, 2016 Biociencia de los alimentos (2016), Bernal Castro *et al.*, 2017 Manual: Avances en tecnología probiótica. Capítulo 15 Estabilidad de almacenamiento de los probióticos. No disponible (ND)

1.3 Problemática

México es considerado uno de los doce países mega diversos. Este posee biodiversidad o diversidad biológica (CONABIO-SNIB, 2021) siendo una excelente oportunidad para la innovación y contribución a la producción alimentaria de forma local y nacional. Dentro de esta biodiversidad, contamos con alimentos autóctonos o locales considerados como un conjunto de productos agropecuarios nativos, «exóticos o tropicales, silvestres», de producción limitada y localizada, con gran potencial comercial nacional e internacional y de nicho de mercado, principalmente los del reino vegetal. Un área de oportunidad son las frutas silvestres o de traspatio, a través de la preservación y el aprovechamiento como opción de desarrollo de las comunidades poseedoras de tan importantes alimentos vegetales. Sin embargo, dada la diversidad de estas especies exóticas mexicanas y nativas, algunas de estas frutas no han sido estudiadas en cuanto a sus propiedades fisiológicas y su composición química. Aparte de que es necesario un cambio en la dinámica productiva, donde los productores locales tomen un papel estratégico en la producción de alimentos con nuevas alternativas sostenibles y proveer valor agregado a la cadena agroalimentaria a través de la transformación de sus materias primas (locales). Sin embargo, la falta de tecnología, capacitación técnica y capital en las zonas marginadas, hace que los alimentos se consuman en fresco, por lo que impacta en el valor agregado.

A partir de esta información, en el mercado, la demanda de alimentos que permiten al consumidor implementar hábitos alimenticios más saludables ha ido incrementando. Por lo tanto, la búsqueda de alimentos funcionales y nutraceuticos, son un reto para la ciencia y tecnología de los alimentos. De ahí el interés de contribuir en el desarrollo de nuevos alimentos y valorar provisiones como, las frutas de traspatio, por ser fuente importante de fitoquímicos y prebióticos, considerados compuestos bioactivos, los cuales son poco

aprovechados y además son materia prima disponible en México, con gran potencial para generar alternativas importantes en la cadena de valor agroalimentario.

1.4 Justificación

Los estudios epidemiológicos y nutricionales sugirieron que cuanto mayor es el consumo de frutas y verduras, menor es la incidencia de enfermedades crónicas como problemas cardíacos coronarios, cáncer y enfermedad de Alzheimer, atribuible a la presencia de fitoquímicos. El consumo de algunas frutas silvestres ha aumentado, transformándose en alimentos funcionales y se han explorado ampliamente por sus efectos positivos en la salud. Los nutriólogos recomiendan a las frutas y las verduras por contener abundante fibra dietética, prebióticos, vitaminas, minerales, en particular grandes cantidades de fitoquímicos (Lovo V, 2010). Los compuestos bioactivos, como antocianinas y flavonoides han demostrado la eliminación de radicales libres, actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, anticancerígena y antiglicémicos.

Entre los alimentos procesados, se destaca la producción y el consumo de bebidas a base de frutas, por ser importantes en lo que respecta a la economía industrial. Los ingredientes de las bebidas desempeñan un papel esencial en la dieta y la salud humana. Las bebidas incluyen los nutrientes necesarios para la dieta humana y además contienen componentes no nutritivos que poseen actividades biológicas vitales.

Además las frutas y hortalizas se están utilizando como portadores de bacterias probióticas (Antunes et al., 2013; Fonteles et al., 2012). Este tipo de alimentos pueden influir en el crecimiento, la supervivencia, la viabilidad y la funcionalidad de los probióticos a través de un simbiótico, lo que determina su efectividad (Ranadheera et al., 2010). Estas combinaciones de compuestos bioactivos de prebióticos y probióticos, además de propiedades fitoquímicas y funcionales definidas darán origen a nuevos alimentos

contribuyendo a la salud de quienes lo consumen con frecuencia. Por lo tanto y debido a los adelantos en el área de la microencapsulación por secado por aspersion, son muchas las investigaciones y coinciden con las nuevas tendencias de desarrollo e innovación en el ámbito alimentario.

Por lo que, al generar información científica de la caracterización de los componentes bioactivos de *C. betacea*, permitirá promover su consumo a través de alimentos funcionales con nutrientes necesarios para la dieta humana a bajo costo, son una alternativa para su aprovechamiento de estas materias primas de las localidades de Sierra Nororiental del Estado de Puebla, apoyando a la economía local y la promoción de la demanda como cultivo comercial, así como el fitomejoramiento de sus variantes de acuerdo con criterios de consumo como sabor, color y tamaño. El fruto *C. betacea* es un importante recurso alimenticio, medicinal y comercial para la región de la Sierra Nororiental del Estado de Puebla.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar la composición bromatológica y capacidad antioxidante, actividad antioxidante de *C. betacea*; llevar a cabo pruebas cualitativas fitoquímicas e identificación de estructuras químicas por métodos espectroscópicos (IR, UV, RMN) y determinar su efecto prebiótico en ensayos *in vitro*, para generar un alimento funcional y promover el consumo y producción en el estado de Puebla.

Para la consecución del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1.5.1 *Objetivos específicos*

- Realizar análisis bromatológicos de la pulpa y cáscara de *C. betacea*, fibra dietaria total y carbohidratos totales.
- Determinar compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y capacidad antioxidante por métodos químicos y pruebas cualitativas fitoquímicas.
- Evaluar la actividad prebiótica de las harinas de pulpa y cáscara utilizando BAL y establecer las dosis adecuadas de inoculación para determinar los parámetros de crecimiento microbiano, control glucosa.
- Identificar las estructuras químicas funcionales de *C. betacea*, por métodos espectroscópicos (RMN, IR, UV).
- Desarrollar una bebida en polvo a base de *C. betacea* mediante secado por aspersión, caracterizarla químicamente, y en términos de viabilidad de bacterias ácido lácticas, actividad antioxidante, simulación gastrointestinal *in vitro* y aceptabilidad sensorial.

1.6 *Hipótesis*

Los compuestos bioactivos identificados en *C. betacea*, presentan alto contenido de antioxidantes y actividad prebiótica, por lo que tendrán efectos positivos asociados a la salud y permitirá generar un alimento funcional.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 *Nutraceuticos*

En 1989 el Dr. Stephen L. Defelice acuñó el vocablo “nutraceútico” y al año siguiente lo evidencio a través de la Fundación para Innovación en Medicina en Nueva Jersey, de ahí que surge la unión de las palabras nutrición y farmacéutico refiriéndose a compuestos bioactivos con un beneficio a la salud humana, con capacidad preventiva o terapéutica (Defelice, 2000). Incluyen sustancias como fitoquímicos de origen vegetal, sobre todo de frutas y hortalizas, animal y mineral y se clasifican en diversas formas; por su acción biológica, (Zierler-Brown, 2007) por ejemplo, antioxidantes, anticancerígenos, hipocolesterolémicos, antiinflamatorios, osteogénicos, antibacteriales, etc.; otra por su estructura química como se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2. 1 Nutraceuticos más comunes

Fitoquímicos	Otros Nutraceuticos
Carotenoides	Probióticos y Prebióticos
Polifenóles	Aminoácidos y proteínas
Antocianinas	Hidratos de carbono
Flavonoides	Lípidos
Derivados azufrados	Vitaminas
Fitoesteroles	Minerales

Fuente. Adaptado de Badui 6 edición.

2.2 *Alimentos Funcionales*

Es innegable la estrecha relación que existe entre la alimentación y la salud del hombre, existe evidencia científica sólida que avala su efecto positivo. El término se acuñó por primera vez en la década de 1980, "alimento funcional" se refería a los alimentos a los que se les añadían nutraceuticos o componentes bioactivos para mejorar la salud. No tiene una clara definición y se usa como equivalente de alimento nutraceutico. Se le llamo funcional porque apoya las funciones básicas del organismo humano, además de los valores

nutricionales que estos poseen (Farag *et al.*, 2020). Los alimentos funcionales han demostrado alterar, modificar, y restablecer la microbiota intestinal preexistente y se basan específicamente en adicionar ingredientes alimentarios no digeribles como los prebióticos, favoreciendo el desarrollo de una microbiota estable y en combinación con probióticos se les llama simbióticos (Pandey *et al.*, 2015). Se destacan en el mercado, alimentos funcionales como yogurt (salud digestiva, cereales (salud cardíaca), margarinas/mantequillas (metabolismo del colesterol) y barritas y bebidas energéticas/proteicas (reducción del hambre) (Bogue et al., 2017).

Una de las organizaciones como La Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos, poseen una lista de probióticos bien estudiados, basada en la contribución a una microbiota intestinal saludable, que probablemente aportan algunos beneficios generales siempre y cuando se administren en los alimentos un nivel de 1×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) por porción de probióticos, en esta lista se encuentran probióticos como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, (*acidophilus*, *casei*, *fermentum*, *gasseri*, *johnsonii*, *paracasei*, *plantarum*, *rhamnosus* y *salivarius*) (CFIA, 2020), estas cepas siguen los más utilizados en alimentos funcionales y suplementos dietéticos, pero los probióticos de próxima generación, como *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium butyricum*, *Lactococcus lactis* KC24 han demostrado resultados prometedores. Los probióticos de nueva generación son de los géneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Akkermansia* y *Faecalibacterium*.(Novik & Savich, 2020; WGO, 2017).

2.3 Relación estructura y función

La microbiota humana es el conjunto de microorganismos que viven y colonizan un lugar en particular del cuerpo humano y consiste en todos los organismos microscópicos es

decir bacteria, arqueas, virus, protozoos y hongos encontrándose en las superficies del huésped que están en contacto con el medio ambiente exterior, piel, boca, intestino, vagina, etc. (Ishiguro et al., 2018). Las funciones de la microbiota intestinal, se derivan del equilibrio que existe entre el microorganismo no patógenos y patógenos (normobiosis) y cuando está afectado, este equilibrio se llama disbiosis, la relación que hay del hospedador y los microorganismos, se asocia a que lo pueden llevar a condiciones patológicas en el ser humano, un equilibrio adecuado entre estos microorganismos permite un buen desempeño de funciones metabólicas, inmunológicas y de protección intestinal. Entre estas funciones tenemos el metabolismo de nutrientes, xenobiótico y farmacológico, protección antimicrobiana, inmunomodulación y mantener la integridad de la barrera intestinal y la estructura del tracto gastrointestinal (Y. Li et al., 2016b). La microbiota y sus productos son indispensables para dar forma al desarrollo y la función del sistema inmunitario innato del huésped, ejerciendo así impactos multifacéticos en la salud intestinal (J. Wang et al., 2015). Los microorganismos intestinales pueden comunicarse con el cerebro a través de una variedad de rutas por vías directas o indirectas, en donde se encuentran la vía endocrina por medio del cortisol y la vía neural por medio del sistema nervioso entérico y el nervio vago, siendo este último una ruta clave de comunicación neuronal entre los microorganismos intestinales y el comportamiento emocional (Dinan & Cryan, 2017).

Los carbohidratos no digeribles son clasificados en colónicos y prebióticos descritos en la Tabla 2.2. Los primeros, arriban al intestino grueso y aportan energía, sustratos metabólicos, y nutrientes y son sustratos para la microbiota del hospedero, mientras que los prebióticos poseen, además de los rasgos descritos, “efecto bifidogénico” mediante la estimulación selectiva del crecimiento de especies bacterianas de *Lactobacillus* y *Bifidum* de la microbiota del colon (Panisello, 2015).

Tabla 2. 2 Clasificación de carbohidratos no digeribles

Carbohidratos no digeribles	Denominación de carbohidratos no Digeribles
Ingredientes colónicos (Polisacáridos estructurales de plantas)	Pectinas
	Hemicelulosas o celulosa
Prebióticos	Gomas
	Algunos oligosacáridos derivados de la soja
	Glucooligosacáridos
	Arabinooligosacáridos
	Fructanos tipo inulina
	Fructooligosacáridos (FOS)
	Galactooligosacáridos (GOS)
Lactulosa	
Oligosacáridos de la leche humana	

Adaptada de: (Corzo et al., 2015)

En la Tabla 2.3, se observa los efectos fisiológicos de la fermentación de la oligofruktosa, se parte del supuesto que el aumento de las *bifidobacterias* colónicas, resulta beneficioso para la salud humana produciendo compuestos que inhiben a los potenciales patógenos, reduciendo los niveles de amoníaco, y produciendo vitaminas y enzimas digestivas.

2.4 Prebióticos

El concepto de prebiótico es conocido desde hace más de 100 años. En diciembre, (2016) un panel de expertos en microbiología, nutrición e investigación clínica fueron convocados por la Asociación Internacional Científica de Prebióticos y Probióticos (ISSAPP) para la revisión es este término concluyendo que un prebiótico es un sustrato que es utilizado selectivamente por microorganismos huéspedes que le confieren un beneficio a la salud del hospedador (Hill et al., 2014). Algunos de los alimentos más reconocidos por su efecto prebiótico son carbohidratos. Sin embargo, no todos los carbohidratos son prebióticos. Para definir a un alimento como prebiótico debe demostrar (S. Wang et al., 2020).

- Resistencia a la acidez gástrica, hidrólisis por enzimas de mamíferos y absorción gastrointestinal
- Fermentación por microbiota intestinal
- Estimulación selectiva del crecimiento y / o actividad de bacterias intestinales asociadas con la salud y el bienestar.

Los prebióticos al ser sustratos de los probióticos aumentan el número de bacterias beneficiosas y disminuyen la población de microorganismos patógenos por diferentes mecanismos como son: efectos metabólicos: producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), metabolismo de las grasas y absorción de iones (calcio, hierro y magnesio) y aumentan la inmunidad del huésped (producción de IgA, modulación de citoquinas entre otros) (S. Wang et al., 2020).

2.5 Pectina

La pectina es un polisacárido aniónico lineal, unidas por enlaces α -D-(1,4) de ácido galacturónico y α -1,2-1- ramnosa, así como una variedad de azúcares neutros como arabinosa, galactosa y cantidades menores de otros azúcares, lo que lo hace resistente a la digestión enzimática en la boca y estómago. Es un biopolímero y se clasifica según su grado de esterificación: pectina de bajo metoxilo (LM) va de 25-50 % de metoxilación; pectinas de alto metoxilo (HM) entre 50-80 % de metoxilación, LM forma geles en presencia de iones calcio divalente y HM se obtienen geles en condiciones ácidas en contenido alto de azúcar. La pectina, como otros polisacáridos, son capaces de atravesar de forma inalterada la mayor parte tracto digestivo, una vez que llega al colon, será degradada por las enzimas producidas por las bacterias que forman parte de la microbiota, es decir fermentan la pectina originando gases como hidrogeno, dióxido de carbono y metano, y ácidos de cadena corta (acetato, propionato, butirato, lactato), ejerciendo un efecto

protector frente a desordenes intestinales agudos o crónicos (*Marti del Moral, A. et al. 2003. microbiota - Buscar con Google, s/f*). Actualmente, las pectinas nativas se han comparado con las modificadas debido al desarrollo de medicamentos naturales y productos para la salud. La bioactividad de los polisacáridos de pectina, incluyen diversas aplicaciones farmacológicas, es decir inmunorreguladora, antiinflamatoria, hipoglucémica, antibacteriana, antioxidante y antitumoral y ha sido evaluado su uso como soporte para la administración de fármacos (Soria, 2015).

Tabla 2. 3 Efectos fisiológicos

Parte del cuerpo	Efectos fisiológicos de la fermentación de la oligofruetosa
Colon	Aumenta la cantidad de bifidobacterias en el colon Aumenta la absorción de calcio Aumenta el peso de las heces Acorta el tiempo de tránsito gastrointestinal y posiblemente tenga un efecto hipolipemiente

2.6 *Propiedades de las frutas y vegetales*

En la Figura 2.1. Fu, *et al.*, 2011, reportó algunas bioactividades de las frutas silvestres, las frutas y los vegetales se consumen ampliamente por su gran cantidad de nutrientes y sus compuestos bioactivos, que ejercen efectos benéficos para la salud humana, (Yahia, 2009). Estos productos son antioxidantes naturales y poseen otras propiedades biológicas de interés. Además, otro componente es la fibra dietética compuesta de lignina e hidratos de carbono, como el almidón o los polisacáridos no amiláceos celulosa, hemicelulosas, oligosacáridos, pectinas e hidrocoloides. Las manzanas, las moras, las peras y las frambuesas son una rica fuente de fibra (Kregiel, 2015). Independientemente del peso, la edad y el sexo las personas deben consumir al menos 14 g de fibra por cada 1000 Kcal

según el USDA. Según la recomendación de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, la ingesta media diaria de fibra dietética debería ser de 10-20 15-30 y 16-29 g para jóvenes, adolescentes y adultos, respectivamente (USDA, 2010; EFSA, 2010).

Las frutas son fuentes importantes de algunos micronutrientes dietéticos esenciales, así como de una amplia gama de fitoquímicos, que individualmente o en conjunto pueden tener importantes actividades biológicas que promueven beneficios para la salud. La FD no se define como un grupo químico, sino que es una combinación de sustancias químicamente heterogéneas con algunas funciones fisiológicas relacionadas con los niveles postprandiales de glucosa/insulina en sangre, gastrointestinales y cardiovasculares salud (Saura-Calixto, 2011). De hecho, hoy en día se considera que la FD puede servir como portadora de una cantidad significativa de polifenoles (PP) asociados a la matriz alimentaria a través del intestino humano (Saura-Calixto, 2011).

Cuando se da valor agregado a las frutas a través del procesamiento se producen grandes cantidades de subproductos que no son aprovechados del todo. Entre ellos se encuentran los ingredientes utilizados para la preparación de otros productos y los residuos no tratados en el medio ambiente que causan contaminación. Se ha observado que los subproductos agroindustriales son una buena fuente de FD y PP y que podrían aportar un valor añadido a diferentes productos alimenticios. Por lo tanto, la posibilidad de utilizar estos compuestos como aditivos o ingredientes activos en la industria alimentaria son de gran interés (Gorinstein et al., 2011).

El jugo de frutas es una de las bebidas más comunes que se consumen por su contenido en vitaminas (por ejemplo, β -caroteno, folato y vitamina C), minerales (potasio, calcio y magnesio) e hidratos de carbono. Las frutas y los jugos de frutas también contienen fosfatos, fibra ácidos orgánicos, azúcares, antioxidantes y compuestos aromatizantes.

Incluso Aunque las frutas contienen trazas de grasas y proteínas estos ingredientes no son vitales para los jugos de frutas (Grumezescu & Holban, 2019).

El contenido de azúcar de cada tipo de zumo de fruta varía debido al tipo de fruta. La fructosa es uno de los componentes principales de todas las frutas, pero el contenido de sacarosa, sorbitol y glucosa difiere en cada fruta. Algunas frutas, como los limones, las limas, las moras y las frambuesas tienen un contenido de azúcar bajo. Las granadas, las uvas, los higos plátanos, mangos y mandarinas incluyen un alto contenido de sacáridos.

Así mismo, los polifenoles son sustancias naturales que confieren colores como, naranja, rojo, violeta amarillo y azul principalmente y se encuentran en flores, hojas y frutos (Martínez, 2005). Las propiedades y aplicaciones de los fenoles varían, existiendo algunos con efectos tóxicos sobre los organismos vivos y otros con efectos favorables para la salud. Los compuestos polifenólicos como el ácido gálico, el cis y el trans-resveratrol las catequinas y la quercetina desempeñan un papel como quelantes de metales y eliminadores de radicales libres. Los ácidos fenólicos pueden dividirse en dos grupos principales derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico. La cantidad de compuestos fenólicos difiere entre las frutas. La mora y el arándano silvestre arándanos silvestres tienen una gran cantidad de ácidos fenólicos (Y. Li et al., 2016a). Los flavonoides son uno de los principales grupos de compuestos fenólicos que se encuentran en las frutas. En la literatura, se ha informado de más de 4000 flavonoides. Los flavonoides más comunes que se encuentran en nuestra dieta son los flavonoles (es decir, quercetina, miricetina, kaempferol y galangina), los flavanoles (es decir, catequinas) flavanonas (por ejemplo, naringenina, eriodictiol y hesperetina), flavonas (luteolina, crisina y apigenina), isoflavonoides (formononetina, daidzeína, gliciteína y genisteína) y antocianidinas (malvidina, cianidina, etc.), malvidina, cianidina, peonidina, delfinidina y pelargonidina).

Por ejemplo, las naranjas y los zumos de naranja tienen un alto contenido en hesperetina y naringenina. Además, la epicatequina, la quercetina y la cianidina son los principales flavonoides de las manzanas y los zumos de manzana (Liu et al., 2013).

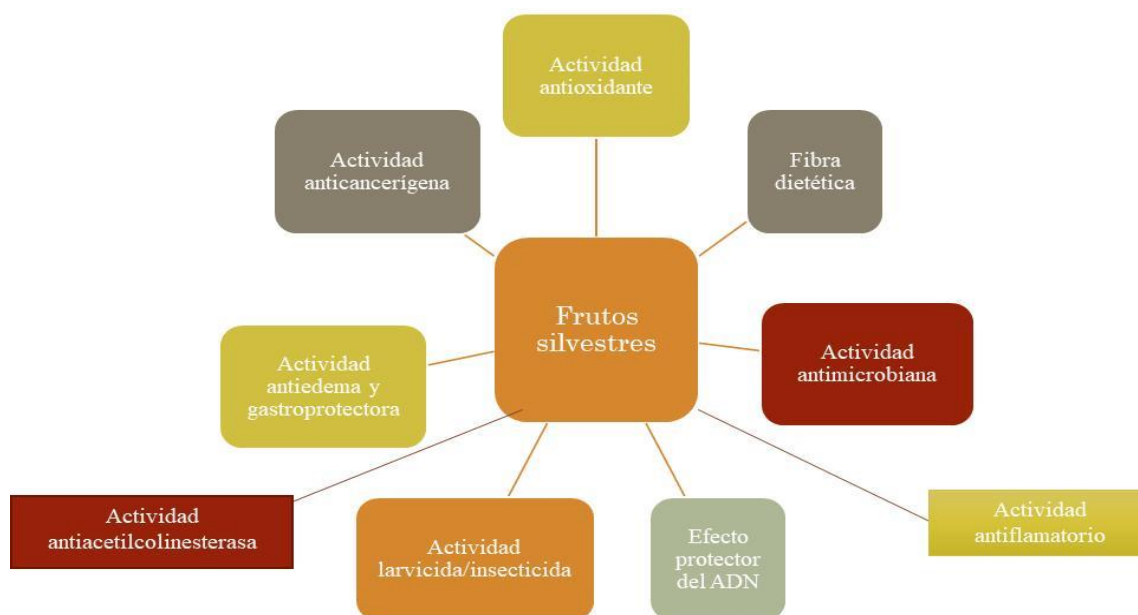


Figura 2. 1 Bioactividades de las frutas silvestres, adaptada de (Y. Li et al., 2016a).

2.7 Diferentes tipos de compuestos polifenólicos y efectos en salud

Los compuestos polifenólicos son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Se trata de un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas como se muestra en la Figura 2.2, donde desempeñan diversas funciones de protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas de los vegetales, otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc). Químicamente poseen estructuras con al menos un grupo fenol con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados, unidos a un grupo funcional, lo que las hace variar sus moléculas de simples a muy complejas, de bajo

peso molecular a muy alto peso molecular a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante. Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, con más de 8 000 compuestos distintos (Del Rio et al., 2013). Son un grupo importante de fitoquímicos bioactivos no nutricionales, donde también se incluyen los terpenoides (carotenoides y fitoesteroles) y los compuestos azufrados (glucosinolatos y compuestos de aliáceas). Debido a su gran diversidad en su estructura, presentan diferentes propiedades, como solubilidad y polaridad, permitiéndoles diferentes interacciones con otras moléculas alrededor de ellas (Jakobek et al., 2013).

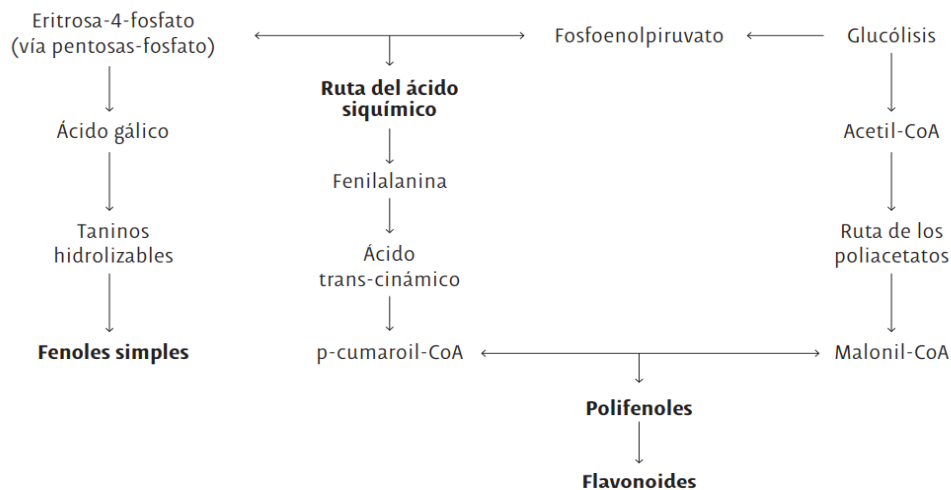


Figura 2. 2 Ruta biosintética de los polifenoles (Quiñones et al., 2012)

Por otro lado, Saura-Calixto, 2011, mostró que la fibra dietética (FD) y los antioxidantes (AOX) pueden abordarse conjuntamente en los estudios de nutrición y estudios de salud porque alrededor del 50% del total de antioxidantes de la dieta, principalmente polifenólicos atraviesan el intestino delgado unidos a la fibra dietética.

Estos antioxidantes han recibido poca atención hasta ahora, liberándose la matriz de fibra en el colon por la acción de la microbiota bacteriana, produciendo metabolitos y un entorno antioxidante. El contenido de polifenoles se asocia a la FD en diferentes alimentos y sus posibles propiedades relacionadas con la salud, se han realizado experimentos con animales y humanos y se ha demostrado que el transporte de los antioxidantes de la dieta a través del tracto gastrointestinal es una función esencial de los FD. Debido a su estructura química los polifenoles extraíbles (PE) se pueden dividir en estructuras simples como los ácidos fenólicos que a su vez pueden encontrarse libres o esterificados, en flavonoides y en otras estructuras mucho más complejas que a su vez se subdividen en proantocianidinas de bajo peso molecular (oligómeros de catequina y epicatequina con grado de polimerización entre 2 y 10) y taninos hidrolizables. Los polifenoles no extraíbles (PNE) incluyen también taninos hidrolizables y pueden dividirse en galotaninos si la unidad monomérica es el ácido gálico y en elagitaninos si es el ácido elágico o su dímero de condensación, el ácido hexahidroxi-difenico (HHDF), polifenoles hidrolizables (ácidos benzoicos y ácidos cinámicos que se unen a estructuras más complejas mediante enlaces glicosídicos) y proantocianidinas de alto peso molecular o también llamados taninos condensados.

La estructura y cantidad de los compuestos polifenólicos está estrechamente ligada a su acción biológica ya que influirá en la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos polifenólicos y por tanto en sus efectos sobre diferentes partes del organismo humano. Para ello es necesario conocer el metabolismo que los compuestos polifenólicos pueden sufrir en el organismo y donde pueden ejercer sus efectos, como se evidencia en Figura 2.3 en el esquema de este proceso.

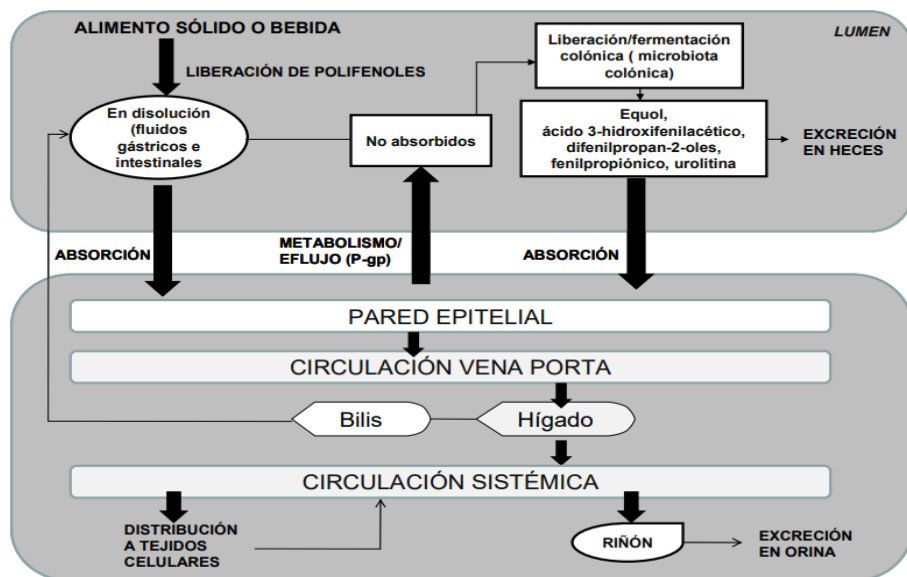


Figura 2. 3 Metabolismo de compuestos polifenólicos de alimentos sólidos y bebidas. Adaptado de Arranz et al. (2009)

Los polifenoles son absorbidos desde el tracto digestivo produciendo efectos sistémicos. Los polifenoles extraíbles (PE) absorbidos son metabolizados y tras convertirse en un nuevo compuesto glucuronidado, sulfatado o metilado son excretados en la orina y bilis (Singleton & Rossi, 1965). Sin embargo, los PNE que incluyen compuestos unidos a otras moléculas y polifenoles polimerizados, no son absorbidos en el intestino delgado y por tanto pasarán a colon donde aumentarán el ambiente antioxidante o bien serán metabolizados por la microbiota colónica y así serán al menos parcialmente absorbidos (Serrano & López, 2006). Además, existe un metabolismo llamado eflujo que es producido por la glicoproteína-P del enterocito que hace que compuestos que han sido absorbidos puedan volver a pasar al lumen intestinal (Holst & Williamson, 2008).

2.8 Composición química y nutricional del Tamarillo (*Cyphomandra betacea*)

El tomate de árbol (*C. betacea*) conocido como tamarillo pertenece a la familia *Solanaceae*, Los frutos son de forma ovoide, con un diámetro de aproximadamente 9-12

cm, color rojizo y amarillo piel y carne anaranjada dependiendo de la madurez, contiene semillas cubiertas por un mucílago color púrpura o rojo escarlata. Es apreciado por sus cualidades nutritivas y por ser fuente de compuestos antioxidantes, calcio, fósforo, potasio y hierro, azúcares, ácidos orgánicos, pectinas y flavonoides. Es originario de América del Sur.

En países como Colombia y Nueva Zelanda, tiene importancia comercial y es producto de exportación. En Argentina, Brasil, y Venezuela también es conocido y se está comenzando a considerarse un cultivo de interés por sus características nutricionales (Ordóñez et al., 2005). Puede ser consumido fresco (crudo), en ensaladas, como postre, aperitivo y en combinación con otros productos. Por el contenido de pectina puede emplearse en la producción de pulpa, alimentos para niños, mermeladas, lo que lo hace un producto que puede ser explorado comercialmente por la industria de alimentos (Prohens & Nuez, 2001). El fruto es fuente importante de vitaminas (A, B, C) siendo el contenido de vitamina A (2475 IU/100 g porción comestible) atribuido principalmente a los carotenoides con actividad provitamina A (Lister et al., 2005). La pulpa presenta minerales (calcio, fósforo y potasio), carbohidratos (fructosa, fibra dietaria), ácido gamma amino butírico, asociado a reducción de la presión arterial y compuestos con capacidad antioxidante como licopeno, polifenoles y antocianinas (Lister et al., 2005). La presencia de antocianinas y carotenoides muestran su actividad biológica, terapéutica y propiedades preventivas (de Rosso & Mercadante, 2007)

En México, se localiza en la Sierra Nororiental de Puebla en los municipios de (Cuautempan y Santiago Yaonahuac) *C. betacea*, se considera silvestre de traspatio es una planta arbustiva de 3 a 4 metros de altura, hoja en forma acorazonada y flor blanca como se observa en la Figura 2.4. El fruto es subvalorado nutricionalmente, lo consumen en fresco, en guisados y salsas, lo utilizan como colorante para teñir ropa típica de la región y en la

salud para bajar la fiebre a menores. Torres en 2012, determino la composición física, química y compuestos bioactivos del tomate de árbol (tamarillo), como se observa en las Tablas 2.4, 2.5 y 2.6. Por otro lado Morillas-Ruiz y Delgado-Alarcón (2012), reportaron datos físicoquímicos y determinaron actividad antioxidante y compuestos fenólicos totales de frutas y vegetales, evidenciando a la fruta de tamarillo, como una fruta exótica, con alto valor nutricional.



Figura 2. 4 Fruta variedad roja de *C. betacea*, madura (a), fruta verde (b) y flor de la fruta (c), colectada en la Sierra Nororiental del Estado de Puebla.

Tabla 2. 4 Caracterización física y química de pulpa madura de tomate de árbol g/100g, reportado en peso seco

Parámetros	Valores
°Brix (sólidos solubles)	10,51±1,20
pH	3,5
Acidez titulable (g/100ml)	0,20±0,00
Humedad	87,72±0,15
Proteínas	1,78±0,14
Grasa *	0,16
Carbohidratos disponibles **	5,36
Calorías (Kcal)	30
Fibra dietaria total	4,10±0,00
Fibra dietaria insoluble	2,21±0,22
Fibra dietaria soluble	1,89±0,08
Cenizas	0,88±0,01

*Valor teórico reportado (grasa)

** Calculados por diferencia (carbohidratos)

Tabla 2. 5 Contenido de minerales y bioaccesibilidad de calcio y hierro en pulpa madura de tomate de árbol (reportado en peso fresco)

Parámetros	Valores
PO4	331,32±32,62
Ca	21,25±3,63
Mg	21,18±0,81
K	17,03±0,27
Fe	7,44±3,16
Zn	1,53±0,32
Mn	0,11±0,05
Bioaccesibilidad de minerales (dializabilidad /100g)	
Ca	6,71±1,49
Fe	1,86±0,41

Valores, reportados promedio ± la desviación estándar

Tabla 2. 6 Compuestos bioactivos en pulpa madura de tomate de árbol Parámetro (reportado sobre peso fresco).

Parámetros	Valores
Ácido ascórbico (mg /100g)	23,32±0,25
Licopeno (mg/100g)	1,22±0,15
Polifenoles (mg ácido gálico EAG/ g)	1,39±0,09
Taninos (mg catequina/100g)	0,40±0,02
Antocianinas (mg cianidina 3-glucósido/g)	29±0,01
Capacidad antioxidante DPPH EC50 (g/g DPPH)	165,00±13,00
TEC50 (min)	59,00±5,00
Eficiencia antirradical	1.0×10^{-4}
Poder reductor PRF (mmol Fe+2/100g)	0,070 ±01

Tablas 2.4, 2.5 y 2.6 adaptado de (Torres, 2012)

La fruta *C. betacea*, es llamada de diferentes maneras: tomate de árbol en Colombia y Ecuador; tomate de ají en España; tamarillo en Nueva Zelanda, Canadá, Brasil y Malasia; y tomate de árbol, monte o chilto en Argentina y Chile. Actualmente, sólo en tres países, Australia, Colombia, Nueva Zelanda, cultivan comercialmente el tamarillo (Diep et al., 2020).

2.9 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante del Tamarillo

C. betacea, es una fruta considerada como un alimento funcional debido a las evidencias científicas relacionadas a las propiedades biológicas y beneficios a la salud

asociadas a sus compuestos bioactivos, como eliminación de radicales libres, antioxidante, antiinflamatorio, actividad antimicrobiana y anticancerígena, tiene el potencial de convertirse en alimento funcional o nutracéutico para prevenir y tratar enfermedades neurodegenerativas. En la Tabla 2.7, se evidencian algunos de los metabolitos secundarios de (*C. betacea*) asociados a efectos positivos en la salud.

Tabla 2. 7 Se presentan algunos compuestos bioactivos de *C. betacea*.

Especie	Metabolitos		Usos y/o aplicaciones	Referencias
	Clase	Compuestos		
Nombre científico: <i>Cyphomandra</i> <i>betacea</i> Nombre común: Tamarillo, tomate de árbol Familia: Solonáceas	Carotenoides	β-caroteno	Terapéutica y preventina	De Rosso & Mercadante (2007)
			Neutraliza los radicales libres	
		Refuerza las defensas antioxidantes		
		Efecto hipolipemiente e hipoglicemiante	Salazar-Lugo et al. (2016)	
		Alto potencial nutraceutico		
		Actividad antiproliferativa		
	Rico en actividad antioxidante			
	Carotenos Antocianinas	Célula de cancer de mama	Mutalib et al. (2016)	
		Higado célula cancerosa		
	Flavonoides	Antocianinas	Terapéutica y preventina	De Rosso & Mercadante (2007)
		delfinidina 3-rutinósido	Neutraliza los radicales libres	
			Refuerza las defensas antioxidantes	
Ácidos fenólicos	β-criptoxantina	Efecto hipolipemiente positivo	Noor et al. (2009)	
		Incremento de la actividad antioxidante de SOD, GPx y TAS		
		Exhibido efecto antiinflamatorios		
Ácidos fenólicos	Ácidos caféico	Alimento funcional	Muñoz et al. (2009)	
	Clorogénico	Neutraliza los radicales libres		
	Rutina	Refuerza las defensas antioxidantes		
	Ácido rosmarinico	Antiinflamatorio, antiviral, antibacterial, antidepresivo, anticarcinogénico y quimio protector		Nunes et al. (2015)
Polisacararidos	Galactoarabinoglucurón oxilano	Actividad antihipertensiva	García, Prieto & Osorio (2016)	
		Efectos antinociceptivos y antiinflamatorios	Alencar et al. (2013)	

Fuente: Elaboración propia.

2.10 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.

La espectroscopia infrarroja es una técnica basada en las vibraciones de los átomos de una molécula. Un espectro infrarrojo se obtiene habitualmente haciendo pasar la radiación infrarroja a través de una muestra y determinando qué fracción de la radiación incidente es absorbida por una energía determinada. La energía a la que aparece cualquier pico en un espectro de absorción, corresponde a la frecuencia de una vibración de una parte de la molécula de la muestra. De tal forma que, el espectro consta de una serie de picos (bandas) de absorción, o simplemente picos, los cuales, se ubican a diferentes posiciones y tienen alturas y anchuras diferentes. En forma general, un espectro de infrarrojo se divide en dos partes. La primera, entre 4000 y 1500 cm^{-1} . En esta región los picos provienen de vibraciones de enlaces presentes en las moléculas consideradas como grupos funcionales ("Spectral Analysis", 2004). Los picos que aparecen en la región comprendida entre 1500 y 500 cm^{-1} , llamada región de huella digital, son generados por varias vibraciones de enlace presentes en la estructura (o esqueleto) de la (s) molécula (s), de ahí el nombre de huella digital al provenir de estructuras únicas de cada molécula o grupo de moléculas (Berthomieu & Hienerwadel, 2009). Se pueden examinar líquidos, soluciones, pastas, polvos, películas, fibras, gases y superficies con una elección acertada de la técnica de muestreo.

2.10.1 Espectroscopía ultravioleta visible (UV)

El término "espectroscopia UV" se refiere generalmente a las transiciones electrónicas que se producen en la del espectro electromagnético (en el rango de 200-380 nm) accesible a los espectrómetros UV estándar (Field et al., 2008). Los compuestos orgánicos, presentan absorciones débiles, medias o fuertes para el caso de dobles enlaces conjugados, de acuerdo a la molécula, se observan bandas ensanchadas, de ahí la amplitud

de la banda va a depender de la estructura propia de molécula (Kaijanen et al., 2015).

2.10.2 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear RMN

Fundamento, todos los núcleos tienen carga porque contienen protones y algunos de ellos también se comportan como si giraran. Una carga que gira genera un dipolo magnético y se asocia a un pequeño campo magnético ^1H . Los dos núcleos más importantes para la espectroscopia de RMN pertenecen a esta categoría: ^1H (hidrógeno ordinario) y ^{13}C (un isótopo no radiactivo del carbono). La espectroscopia de RMN es una herramienta excelente para el análisis de mezclas, si una muestra contiene más de un compuesto, las áreas de las señales pertenecientes a cada especie en el espectro de RMN reflejarán las concentraciones relativas de las especies en la mezcla por elucidación, identificando las moléculas, así como para determinar su estructura, basada en las propiedades magnéticas de la materia que puede ser aplicada a cualquier sustancia química en estado líquido o sólido que presente núcleos con espines nucleares en presencia de un campo magnético externo. La intensidad, forma y posición de las señales de los espectros de un núcleo específico se encuentra relacionado con la estructura molecular, por lo que un espectro muestra información valiosa de la estructura del compuesto que lo origina (Karunakaran et al. 2018).

2.11 Microencapsulación

La microencapsulación es una técnica empleada para proteger compuestos activos, y nutracéuticos (Ribeiro et al., 2018) y consiste en recubrir (material de pared) con carbohidratos, gomas, biopolímeros, coloides, ceras, proteínas y almidones, mejorando la eficiencia del ingrediente activo, por otra parte presentan bajas viscosidades, alto contenido

en sólidos y alta solubilidad (Cano-Chauca et al., 2011) , es importante la elección del material a utilizar ya que de ellos depende las propiedades físicas del núcleo (porosidad, solubilidad) formación de la película. De tal manera, de que se recubra de forma uniforme los ingredientes funcionales (vitaminas, enzimas, fenoles, moléculas y células) con una película polimérica (material de pared) para obtener cápsulas de tamaño micrométrico y controlar su liberación, así como evitar la interacción con otros ingredientes y la estabilidad de los compuestos (Ribeiro et al., 2018).

Los metabolitos secundarios son en su mayoría, compuestos biactivos, que son separados de productos naturales como plantas, animales, hongos y microorganismos (J. Zhang et al., 2020). Siendo ampliamente estudiados y manipulados en el tratamiento de enfermedades y en la fabricación de alimentos funcionales (Zhang, Wen *et al.*, 2020); es decir, productos que incorporan o mejoran ingredientes nutricionales con beneficios potenciales para la salud como, por ejemplo, alimentos con nutrimentos o componentes adicionales; alimentos en los cuales se ha eliminado, reemplazado o reducido un componente nocivo, y alimentos cuya composición ha sido mejorada naturalmente (Contreras-Rodríguez et al., 2020). Se han identificado ingredientes activos con efectos fisiológicos como: fibra dietética, oligosacáridos, alcoholes de azúcar, aminoácidos, péptidos y proteínas; glucósidos, alcoholes, isoprenos y vitaminas; colinas bacterias ácido lácticas, minerales, ácidos grasos insaturados, fitoquímicos y antioxidantes (Ye et al., 2018).

2.12 *Secado por aspersion*

El secado por aspersion es una técnica de amplio uso en la industria de los alimentos para la obtención de productos en polvo a partir de la formación de gotas pequeñas dentro de una cámara de secado a temperatura elevada. Esta técnica, se ha aplicado con el objetivo

de suplementar un alimento mediante la adición de uno o varios ingredientes esenciales que pueden proporcionar beneficios para la salud humana. El objetivo principal del secado por aspersión es microencapsular compuestos bioactivos, construyendo una barrera entre los componentes activos encapsulados y el medio ambiente para evitar las reacciones químicas de deterioro y el contacto del encapsulado con otros ingredientes (Martínez et al., 2015), es decir, estabilidad, solubilidad, tamaño de partículas, propiedades sensoriales (color y sabor) y el poder antioxidante. Este proceso está sujeto a algunas características como: diseño del secador, temperaturas de operación de entrada que oscilan entre 120 °C a 180 °C y de salida que van de 70 °C a 90 °C (Caparino et al., 2012).

CAPÍTULO III

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

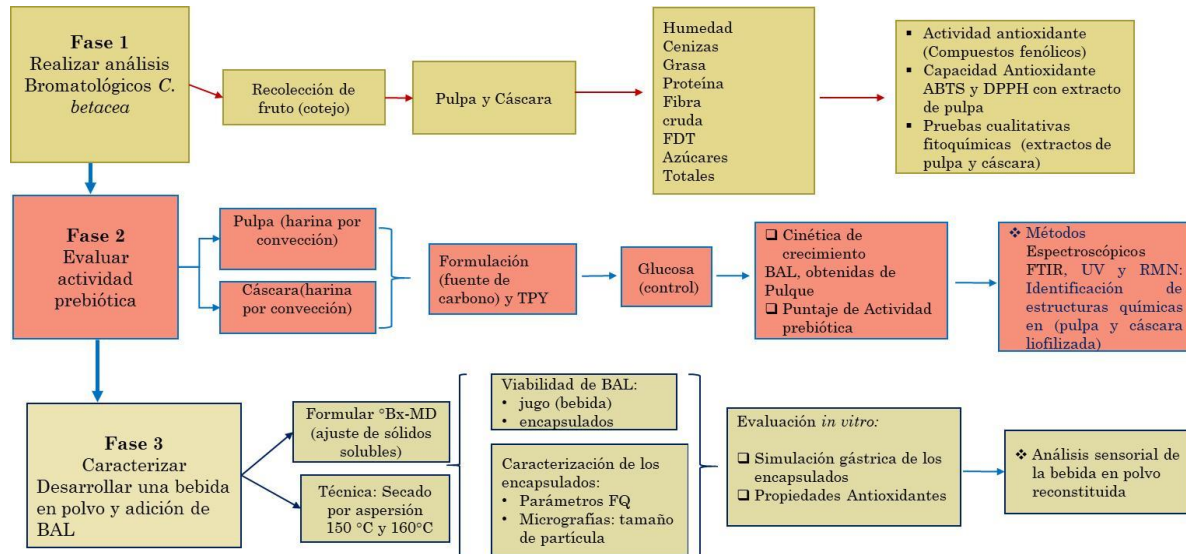


Figura 3. 1 Plan de Investigación.

3.2 Fase I

3.2.1 Herborización de *C. betacea*

Se colectaron muestras frescas de fruta de *C. betacea*, variedad roja, durante el periodo de cosecha noviembre a enero de 2019, de los municipios de Santiago Yaonahuac y Cuautempan pertenecientes a la Sierra Nororiental del Estado de Puebla, Puebla. Los ejemplares fueron depositados en el Herbario-Hortorio CHAPA del posgrado en Botánica del Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, México. Las muestras fueron identificadas como *C. betacea* (*Cav.*) *Sendtn* y con sinonimia de *Solanum betaceum Cav.*, con número de registro CHAPA: 154 534.

3.2.2 Preparación de las muestras

Las muestras fueron reducidas de tamaño de 3x2 cm los lotes se dividieron en pulpa

y cáscara, utilizando dos métodos para el secado de las muestras; i) liofilización, en un Sistema de secado por congelación (FreeZone®, liofilizador, Labconco-7343000, Kansas City, MO, USA) posteriormente y para obtener una buena eficiencia en el proceso, se siguieron las condiciones del equipo, se disminuyó el tamaño de partícula, tiempo de secado de acuerdo a las características de las muestras, temperatura del colector -50°C y el vacío $0.22 - 0.05$ mbar. La harina de pulpa liofilizada freeze-dried pulp flour (FPF) y harina de cáscara (epircapio) liofilizada freeze-dried epicarp flour (FEF). ii) Deshidratación, en un horno de convección computarizado marca San Son (México), las condiciones para pulpa fueron, temperatura de 65°C por 10 horas y en cáscara a 65°C por 4 horas, las muestras deshidratadas obtenidas se les disminuyó el tamaño de partícula. La harina de pulpa deshidratada por convección dehydrated pulp flour by convection (DPFC) y la harina de cáscara deshidratada por convección dehydrated epicarp flour by convection (DEFC), se trituraron en un procesador de alimentos (Thermomix) por 20 segundos a velocidad 5 rpm, para la obtención de las harinas correspondientes. Las harinas de las muestras obtenidas por los métodos, se mantuvieron en frascos herméticos a temperatura ambiente en un lugar oscuro, hasta su uso para cada uno de los análisis.

3.2.3 Preparación de extractos etanólicos

Se realizaron extractos etanólicos a partir de *C. betacea* de las muestras, pulpa liofilizada freeze-dried pulp flour (FPF) y cáscara (epircapio) liofilizada freeze-dried epicarp flour (FEF) en una proporción 1:2 (muestras-etanol), en seguida las muestras fueron maceradas en etanol al 96 % de pureza por 3 días. Los extractos fueron filtrados al vacío con papel filtro Whatman N°4 y se concentraron en un rotavapor (Büchi) a presión reducida a $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Finalmente, se estimaron los rendimientos de los extractos etanólicos de las muestras.

3.2.4 *Análisis bromatológicos*

El análisis bromatológico de las muestras de FPF y FEF de *C. betacea* se llevaron a cabo siguiendo los métodos oficiales de la AOAC (2010), determinando porcentaje de humedad (Método Oficial 925.10), cenizas (Método Oficial 942.05), extracto etéreo total (Método Oficial 920.39), proteína (Método Oficial 984.13), usando el factor de conversión 6.25 y fibra dietética total (Método Oficial 991.43); los azúcares totales se determinaron por el método de (Dubois, 1956). Todos los análisis se realizaron por triplicado en base seca.

3.2.5 *Fibra dietaria total*

La fibra dietaria total (TDF), se determinó pesando 1 g de muestra del extracto etanólico de FPF y FEF (por triplicado) siguiendo el método enzimático-gravimétrico 985.29 de la AOAC. La muestra fue tratada con α -amilasa, proteasa y enzimas amiloglicosidasa (Sigma TDF-100A, Missouri, USA). La TDF fue calculada usando la ecuación (1).

$$TDF (\%) = [R-(P+A)] * 100$$

Donde: *TDF* es fibra dietaría total (%); *R* es el residuo filtrado y secado (g); *P* es el peso de la proteína (g) y *A* es el peso de la ceniza (g).

3.2.6 *Actividad antioxidante*

3.2.6.1 Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu). El contenido total de polifenoles se determinó de acuerdo con la metodología informada por Singleton y Rossi (1965). Se añadió 1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu a 1 mL del extracto etanólico a partir de FPF y se mezcló con 8 mL de Na₂CO₃ 0,7 M. La mezcla se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente en la oscuridad y se midió la absorbancia a 765 nm y se extrapoló con una curva estándar de catecol (0 a 100 mg / mL).

3.2.6.2 Capacidad antioxidante del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico ABTS. La capacidad antioxidante se llevó a cabo según el método descrito por Re et al., 1999. El catión radical ABTS⁺ se generó haciendo reaccionar la sal diamónica de 2, 2'-azino-bis (3-etil benzotiazonelina-6-sulfínico) 7 mM (ABTS) (Sigma Aldrich, St. Louis) y persulfato de potasio 2,45 mM, después de la incubación a temperatura ambiente en la oscuridad por 12 h. La solución de ABTS se diluyó con etanol 70% (v/v) hasta registrar una absorbancia de 0,700 a 734 nm. Para el extracto etanólico a partir de FPF, se diluyó el extracto hasta producir una absorbancia de inhibición en blanco entre 20-80% en una alícuota de 10 mL. Después de la adición de 1,0 mL de solución ABTS diluida ($A_{734nm} = 0,700 \pm 0,020$) a 10 μ L de oleorresinas diluidas o patrones Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (0-15 μ M) en etanol, la lectura de absorbancia se tomó exactamente 1 min después de la mezcla inicial y hasta 10 min. El porcentaje de inhibición de absorbancia a 734 nm se calculó y se representó en función de la concentración de antioxidantes y de Trolox para los datos de referencia estándar.

3.2.6.3 Capacidad antioxidante del radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo

DPPH. Se utilizó el extracto etanólico de FPF y se siguió el procedimiento descrito por Arokiyaraj et al. (2012) y Kasote et al. (2015), para este fin se hizo uso de 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en concentraciones comprendidas entre 62.5-500 mg/mL, y se utilizó ácido ascórbico como control positivo.

3.2.6.4 Pruebas fitoquímicas cualitativas.

De los extractos etanólicos de FPF y FEF de *C. betacea*, se tomó una alícuota de 0.2 g de cada uno y se procedió a su identificación de acuerdo al método propuesto por Domínguez & Alcorn, 1985, para las pruebas se utilizaron los siguientes reactivos, alcaloides (Mayer, Wagner, Dragendorff), saponinas (agua caliente, Rosenthaler), triterpenos (Anhídrido acético), taninos (cloruro férrico al 10%, gelatina), flavonoides (Shinoda, Pew, NaOH) y Glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas (Baljet), todos los análisis se realizaron por triplicado.

3.3 Fase II

3.3.1 Métodos Espectroscópicos

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. Se obtuvieron los IR de los extractos en estado sólido de FPF, FEF y DPFC, DEFC, utilizando ATR de diamante en un Espectrofotómetro IR: equipado con (Agilent Technologies, Cary 630 FTIR, United States) en el rango 4000-600 cm⁻¹.

Espectroscopía UV. Las muestras de FPF, FSF y DPFC, DEFC, fueron disueltas en metanol. Se utilizó un Espectrómetro UV: (Cary 100 UV-Vis), utilizando celdas de cuarzo (Agilent Technologies).

3.3.1.1 Espectroscopía Resonancia Magnética Nuclear ¹H. Se disolvieron y fraccionaron las muestras de FPF, FEF y DPFC, DEFC, por separado y en orden de polaridad creciente (cloroformo, metanol y agua deuterados). Utilizando 20 mg de cada una de las muestras de FPF, FEF y DPFC, DEFC y de manera separada, se disolvieron en 1 mL de cloroformo deuterado (DT), se agitó y filtró. Al líquido filtrado se le determinó RMN; el residuo sólido se secó y suspendió en 1 mL de metanol (DT) y se repitió el procedimiento anterior. Por último, el residuo sólido, ya seco, se disolvió en agua (DT) y se le determinó el RMN. De este modo, cada muestra quedó fraccionada en 3 fracciones según su solubilidad (cloroformo, metanol y agua), se utilizó TMS como patrón interno. Para obtener los espectros, se utilizó en un equipo RMN: Bruker Avance III, operando a 400.13 MHz para hidrógeno y una sonda inversa.

3.3.1.2 Crecimiento bacteriano y actividad prebiótica. Se utilizaron 3 bacterias ácido lácticas (BAL) de la colección de la Universidad Popular Autónoma de Puebla (UPAEP), obtenidas de pulque (bebida mexicana fermentada) e identificadas por biotipificación por MALDI Biotyper, con software 2.2 (Bruker Daltonics, Billerica, MA). Las cepas de la colección de UPAEP, fueron clasificadas según su score, *L. casei* 2.23, *L. plantarum* 2.078 y *L. paracasei* 2.374 y como bacteria patógena se utilizó *E. coli* (ATCC 25922), este último, como control negativo.

3.3.1.3 Actividad prebiótica. Se preparó el medio de cultivo (% w/v): con 0.5 peptona de caseína, 0.3 extracto de levadura y glucosa como control al 1.0 y 1.0 de prebiótico obtenido de las muestras de DPFC Y DEFC de *C. betacea*. Se realizó el conteo de UFC/mL por el método de cuenta en placa utilizando el mismo medio más 1.5% de agar bacteriológico. Se realizó una cinética de crecimiento para cada BAL utilizando glucosa como fuente de carbono por 18 horas, cada 2 horas, se determinó la densidad óptica (D.O) y cuenta en placa por triplicado, posteriormente se determinó por interpolación, las UFC/mL para cada una de las muestras. La temperatura de incubación fue de 37°C. Las BAL se hicieron crecer en caldo TPY (200 µL) con 10 µL de inóculo con una D.O. inicial de 0.15 nm utilizando un equipo lector de microplaca de 96 pocillos Espectrofotómetro de microplacas Multiskan FC. Se realizó la cinética de crecimiento en microplacas de 96 pozos con 200 µL del medio de cultivo y 10 µL de inóculo de las BAL, por 18 horas se dejó incubar a 37°C y se evaluó la D.O. cada 2 horas por triplicado.

La actividad prebiótica se determinó de acuerdo al cambio de la biomasa celular después de 18 horas de crecimiento de las BAL en 1 % de prebiótico y 1 % de glucosa. A partir de los datos de la biomasa, se calculó la puntuación de actividad prebiótica de acuerdo a la relación descrita por Huebner *et al.*, 2007, donde probó el puntaje con varios prebióticos comerciales.

3.3.1.4 Análisis de datos. Para conocer los efectos e interacciones entre los sustratos de harina de pulpa, cáscara y actividad prebiótica *in vitro* se utilizó un ANOVA de un factor, evaluando el crecimiento UFC/mL en cada sustrato contra el control y se aplicó la prueba de Tukey para conocer las diferencias significativas entre las medias, todos los resultados se realizaron por triplicado. Los valores significativos se consideraron con un valor de $p < 0.05$ y fueron analizados en el programa Minitab 18.

3.4 Fase III

3.4.1 Materia prima y preparación de solución de *C. betacea*.

Los frutos de *C. betacea*, variedad roja de la región Sierra norte del estado de Puebla, México, fueron obtenidos en el mercado de Tlatlauquitepec, Puebla; se compraron 8 kg de fruta, se lavaron en agua, posteriormente se les retiró el pedúnculo y epicarpio, se filtró en un tamiz de acero inoxidable para obtener la pulpa y mucílago que recubre a la semilla, con un pistilo se presionó, dejando las semillas en el tamiz. Las pulpas obtenidas fueron envasadas en bolsas de polietileno laminado con aluminio y se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su uso posterior. Previo al almacenamiento, se realizaron pruebas preliminares con la pulpa obtenida para ajustar sólidos solubles, grados brix ($^{\circ}\text{Bx}$) utilizando agua destilada. Como material de pared se empleó maltodextrina de grado alimenticio (MD), con equivalentes de dextrosa de 16.5-19.5 (ED). Las formulaciones elegidas se observan en la Tabla 3.1, de tal manera que, para la proporción 1:4, se prepararon 100 mL de una bebida de *C. betacea*, más agua destilada y por cada $^{\circ}\text{Bx}$ presente en la bebida, se adicionaron 4 partes de MD, y para la proporción 1:3, se siguió con el mismo protocolo, para 100 mL de bebida de *C. betacea*, por cada $^{\circ}\text{Bx}$ se adicionaron 3 partes de MD.

Tabla 3. 1 Proporciones de las bebidas con *C. betacea*, por ajuste de °Bx-MD.

Formulación	Jugo de <i>C. betacea</i> (mL)	Sólidos solubles totales (°Bx)	Agua destilada (mL)	Maltodextrina (g)
1 (proporción 1:4)	30.71	5	49.29	20
2 (proporción 1:3)	30.71	5	54.29	15

3.4.2 *Inoculación de bacterias ácido lácticas en los jugos de C. betacea*

Para la obtención de la biomasa de las cepas con potencial probiótico, se utilizaron bacterias ácido lácticas (BAL) de la colección de la Universidad Popular Autónoma de Puebla (UPAEP) y clasificadas según su score, *L. casei* 2.23, *L. plantarum* 2.078 y *L. paracasei* 2.374. Para tal efecto, las BAL fueron inoculados en 200 mL de medio caldo MRS (marca Merck, Canadá) al 2%, a partir de un pre-inoculo inicial de 1.5 de DO₆₀₀ y se incubaron a 37 °C por 48 h, posteriormente fueron concentradas en una centrifugadora a 4000 la fuerza centrifuga relativa (rpm), por 20 minutos utilizando tubos falcón de 50 mL y fueron almacenadas a 4 °C en refrigeración hasta su uso. Se prepararon 100 mL de jugo con *C. betacea*, con una proporción 1:4, una vez obtenida la bebida, se adicionó 2 % de biomasa de *L. plantarum*, se refrigero a 4 °C, hasta su uso, se siguió con el mismo procedimiento para las 2 cepas restantes *L. casei* y *L. paracasei*, por lo tanto e obtuvieron 3 lotes, lo mismo, fue para la proporción 1:3, por lo que, se obtuvieron 6 lotes de bebidas cada una de 100 mL.

Posteriormente, se evaluó la viabilidad de las BAL inoculadas por el método de cuenta estándar en placa en agar MRS; se tomaron 100 µL de los jugos formulados de cada proporción y se transfirieron a un tubo eppendorf con 900 µL de solución salina. Se hizo una serie de diluciones decimales hasta 10⁶. Posteriormente, se tomaron 10 µL y se

inocularon en placas con agar MRS por duplicado; fueron incubadas a 37 °C durante 48 h. Una vez terminada la incubación se realizó el conteo de las UFC calculando el promedio por duplicado y se reportó como log UFC/g, para asegurar un número significativo de 10⁹ UFC/g a 10¹¹ UFC/g de supervivencia de las BAL, antes del secado.

3.4.3 *Secado de las cápsulas del jugo de C. betacea, para la obtención de microcápsulas secados por atomización*

El secado por atomización se realizó utilizando un secador por aspersion a escala laboratorio (Buchi Mini Spray Dryer B-290/Switzerland) con las variables descritas en la Tabla 3.2, utilizando dos diferentes proporciones de °Bx-maltodextrina a dos temperaturas de entrada (TE) (150-160°C), a las que les corresponden temperaturas de salida de 70°C y 75°C a un flujo de alimentación de 12 mL/min. Los encapsulados obtenidos de los 12 tratamientos de los jugos de *C. betacea*, fueron recolectados, se pesaron y se envasaron en bolsas selladas al vacío y se almacenaron en refrigeración a 4 °C, hasta su estudio posterior.

Tabla 3. 2 Condiciones de atomización, para los tratamientos de las bebidas con *C. betacea*.

Tratamientos	Proporción °Bx-MD	Temperatura de entrada (°C)	Cepa
T1	1:4	150	<i>L. plantarum</i>
T2		160	<i>L. plantarum</i>
T3		150	<i>L. caseí</i>
T4		160	<i>L. caseí</i>
T5		150	<i>L. paracaseí</i>
T6		160	<i>L. paracaseí</i>
T7	1:3	150	<i>L. plantarum</i>
T8		160	<i>L. plantarum</i>
T9		150	<i>L. caseí</i>
T10		160	<i>L. caseí</i>
T11		150	<i>L. paracaseí</i>
T12		160	<i>L. paracaseí</i>

3.4.4 Evaluación de supervivencia de las BAL con potencial probiótico encapsulados durante el almacenamiento en refrigeración.

Se determinó la viabilidad celular de las BAL posterior al proceso de microencapsulación al día 0 y día 35 de almacenamiento, mediante el método estándar de cuenta en placa en agar MRS (marca Merck, Canadá). Se tomó 0.1 g de los encapsulados y se diluyeron en 900 µL de solución buffer de fosfatos (PBS), pH 7, se sometieron a agitación por 30 minutos en un vórtex. Posteriormente, se tomaron 10 µL, se empleó la técnica de microgota y se inocularon en placas con agar MRS por duplicado y fueron incubadas a 37 °C durante 48 h. Una vez pasado el tiempo de incubación, se contaron las UFC se calculó el promedio de los duplicados y se reportaron como log UFC/g (Krasaekoopt et al., 2004).

3.4.5 Eficiencia de encapsulación (EE %) de los tratamientos de C. betacea.

La eficiencia de encapsulación (EE), que representa la tasa de supervivencia de los microorganismos durante el proceso de microencapsulación, fue calculado de acuerdo a la Ecuación 1 (Martin et al., 2013).

$$EE \% = (N/N_0) \times 100 \quad (1)$$

Donde N es el número de células viables (log UFC) liberadas de las microcápsulas y N_0 es el número de células viables (log UFC) en la solución de alimentación (jugo) antes del proceso de secado por aspersión.

3.4.6 Viabilidad de las BAL encapsuladas, bajo condiciones gastrointestinales simuladas.

Se evaluó la viabilidad de las BAL contenidas en las microcápsulas obtenidas de C.

betacea, de las proporciones 1:4 y 1:3 de todos los tratamientos, descritas en la Tabla 3.1, bajo condiciones gastrointestinales *in vitro*. Para tal efecto, se siguió la metodología según Diana et al. (2015) y con algunas modificaciones de Juárez-Trujillo et al. (2021). Se tomó 0.1 g de cápsula, se adicionaron 12.5 mL de agua destilada estéril, se ajustó el pH a 6.5 con CaCl_2 1 mM y 125 μL de amilasa. Las muestras de los tratamientos se incubaron en una incubadora con agitación (IKA KS 3000, USA), y temperatura controlada a 37 °C por 5 minutos. Posteriormente, se agregó solución gástrica 3 mg/mL de pepsina (Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.) y se ajustó el pH a 2.5 con HCl 0.1 N. Se incubó por 1 h a 37 °C. A continuación, se añadió jugo intestinal, conformado por 3 mg/mL de sales biliares (Oxgall, Sigma, USA) y 1.9 mg/mL de pancreatina (Sigma, St. Louis, MO, USA). Se incubó durante 2 h. Posteriormente y transcurridos los tiempos de cada etapa al final, fueron tomadas alícuotas de 100 μL , para realizar cuenta estándar por micro gota (Ahmad et al., 2019), diluyéndose en una solución buffer de fosfatos (PBS) y se extendieron en agar MRS.

3.4.7 *Actividad antioxidante de los microencapsulados de C. betacea.*

3.4.7.1 Contenido de Polifenoles Totales.

Para este estudio, se tomaron los tratamientos T1 y T2, correspondientes a la proporción 1:4 °Bx-MD y TE 150 °C y 160 °C respectivamente y T7 y T8, correspondientes a la proporción 1:3 °Bx-MD y con TE 150 °C y 160 °C respectivamente.

El contenido de compuestos fenólicos totales, se determinó con la metodología de Singleton & Rossi (1965) con modificaciones de acuerdo a Juárez Trujillo et al. (2018), a partir de una solución madre elaborada con las microcápsulas de los tratamientos T1, T2, T7 y T8. Se pesaron 100 mg de cada microcápsula y fueron adicionados 10 mL de agua destilada vertidos en tubos falcón, los 4 tubos se sometieron a centrifugación a 6000 rpm

por 5 minutos. Posteriormente, se tomaron 30 μL de la solución madre de las microcápsulas de los tratamientos T1, T2, T7 y T8 del sobrenadante de cada tratamiento para su análisis, más 30 μL del reactivo Folin-Ciocalteu, se añadieron a los pocillos de la microplaca, se incubaron durante dos minutos a 40 °C y, a continuación, se añadieron 240 μL de Na_2CO_3 , se agitaron y se incubaron durante 20 minutos a 40 °C. Después de ese tiempo, se leyó la absorbancia a $\lambda = 765$ nm. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (GA) a diferentes concentraciones. Los datos se expresaron como el promedio de mg de equivalentes de GA (GAE) por gramo (g) de peso seco de cada tratamiento. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.4.7.2 Condiciones gastrointestinales

Para la evaluación de compuestos fenólicos totales, bajo condiciones gastrointestinales, se tomaron los mismos tratamientos T1, T2, T7 y T8 de los microencapsulados para ser evaluados, al final de cada etapa de la simulación gastrointestinal, se extrajeron alícuotas de 100 μL de los tratamientos sometidos a condiciones gastrointestinales para su posterior análisis y se adicionaron a cada muestra de las diferentes fases gastrointestinales 30 μL de Folin-Ciocalteu y se añadieron a la microplaca de 96 pocillos, para seguir con la metodología, se incubaron durante dos minutos a 40 °C y, a continuación, se añadieron 240 μL de Na_2CO_3 , se agitaron y se incubaron durante 20 minutos a 40 °C. Después de ese tiempo, se leyó la absorbancia a $\lambda = 765$ nm.

3.4.8 *Determinación de inhibición del radical DPPH, 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo, de los encapsulados de C. betacea.*

La determinación de la inhibición del radical DPPH se realizó según la metodología sugerida por Brand-Williams et al. (1995) con algunas modificaciones a realizar en un

lector de microplacas de 96 pocillos (Multiskan F. C., modelo IVD, Finlandia). Se añadieron 30 μL de cada uno de los tratamientos T1, T2, T7 y T8 obtenidos de la solución madre (microcápsulas) antes mencionada, y fueron adicionados 100 μL del reactivo DPPH; a continuación, la placa se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos a $\lambda = 517 \text{ nm}$, los ensayos se realizaron por triplicado.

Condiciones gastrointestinales

Para la determinación de la inhibición del radical DPPH, bajo condiciones gastrointestinales, se tomaron los mismos tratamientos de T1, T2, T7 y T8 de los microencapsulados para ser evaluados, al final de cada etapa de la simulación gastrointestinal, se extrajeron alícuotas de 100 μL de los tratamientos sometidos a condiciones gastrointestinales para su posterior análisis y se le adicionaron 100 μL del reactivo DPPH; a continuación, la placa se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos a $\lambda = 517 \text{ nm}$, los ensayos se realizaron por triplicado.

3.4.9 Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados de C. betacea

La caracterización fisicoquímica de las microcápsulas se determinó para los tratamientos, T1 y T2, correspondientes a la proporción °Bx-MD 1:4 y TE 150 °C y 160 °C respectivamente y T7 y T8, correspondientes a la proporción °Bx-MD 1:3 y con TE 150 °C y 160 °C respectivamente.

3.4.10 Color en la escala CIE L* a* b*

El análisis de color de las microcápsulas se realizó con un colorímetro (Color Flex Hunter Lab, modelo CX115 45/0 USA) determinando L* (Luminosidad o brillantez), a*(señala los colores verde negativo y rojo positivo) y b*(representa los colores azul negativo y amarillo positivo). Se calculó Hue° (ángulo matiz) y Cromo (saturación)

(Caparino et al., 2012), mediante las siguientes ecuaciones.

$$\text{Ángulo matiz } (^{\circ}H) = \tan^{-1}(b/a) \quad (2)$$

$$\text{Cromaticidad (Croma)} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3)$$

Además, se determinó el índice de oscurecimiento de acuerdo a la Ecuación 4 y cambio total de color de acuerdo a la Ecuación 5 (Buera et al., 1985; Caivano & López, 2021; Tiwari et al., 2008b).

Índice de oscurecimiento

$$IO = ((X - 0.31)/0.172) \times 100 \quad (4)$$

Para obtener los valores de X, se utilizó la siguiente ecuación:

$$x = x/(x + y + z) \quad (5)$$

Donde: x, y, z fueron determinados de acuerdo a la escala CIE XYZ

Cambio total de color

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - A_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad (6)$$

Donde:

L_0, a_0, b_0 = Valores de color de la muestra inicial.

L, a, b = Valores de color de la muestra tratada

3.4.11 Actividad de agua (a_w).

Se determinó actividad de agua a las microcápsulas de los tratamientos (T1, T2, T7 y T8), empleando un higrómetro, incorporado con un sensor de punto de rocío (Aqua Lab, modelo Series 3, USA) a 25 °C; se colocó 1 g de muestra para la medición (Jimenez et al., 2015).

3.4.12 Humedad.

Se determinó por el método oficial de la A.O.A.C. (2003). Se colocó 1 g de las microcápsulas en charolas de aluminio (previamente taradas) en una estufa de vacío (marca Shel Lab, USA) durante 24 horas a 45 °C a una presión de 52 mm de Hg hasta peso

constante, de acuerdo a la ecuación 7.

$$\% \text{ Humedad} = (M1 - M2) / M \times 100 \quad (7)$$

Donde:

M1= Peso de la charola de aluminio con muestra húmeda

M2= Peso de la charola de aluminio con muestra seca

M= Peso de la muestra húmeda.

3.4.13 Propiedades de flujo

De igual manera, se realizaron los análisis de las propiedades de flujo para los tratamientos T1, T2, T7 y T8 como ejemplo de cada variable independiente a evaluar con respecto a (MD y TE).

3.4.14 Densidad aparente

La densidad aparente o a granel se define como la masa del polvo dividida entre su volumen aparente. Se pesó 1 g de muestra y se agregó a una probeta, se tomó el volumen que ocupó el polvo (Shah et al., 1997). La densidad se calculó con la siguiente ecuación:

$$DA = M/V \quad (8)$$

Donde:

DA= Densidad aparente

M= Peso de la muestra en gramos

V= Volumen de la muestra en mL.

3.4.15 Densidad compactada.

La densidad compacta se determinó por el método de “tapping” en el cual 2-5 g de la muestra (encapsulados), se colocaron dentro de una probeta graduada de 10 mL. La

probeta se golpea 50 veces, sobre la superficie plana hasta volumen constante ocupado por la muestra. La densidad compacta se calculó dividiendo el peso de la muestra entre el volumen constante ocupado por la muestra (Jiménez et al., 2015). Se calculó el volumen compactado mediante la siguiente ecuación:

$$Dc = M/Vc \quad (9)$$

Donde:

M= Peso de la muestra en gramos

Vc= Volumen de la muestra compactada en mL.

3.4.16 Índice de Hausner

Además se caracterizó la fluidez del polvo, por el índice de Hausner, siendo una cantidad física adimensional o material granular y se calculó siguiendo la técnica de Hayes (1987):

$$IH = DC/DA \quad (10)$$

Donde:

IH= Índice de Hausner

DC= Densidad compactada

DA= Densidad a granel.

3.4.17 Compresibilidad

La compresibilidad es la capacidad de compresión de la muestra expresada en porcentaje, de acuerdo a lo reportado por Kagami et al. (2003), usando el porcentaje de compresibilidad y se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$\%C = (DC - DA/DC) \times 100 \quad (11)$$

Donde:

%C= Compresibilidad

DA= Densidad a granel

DC= Densidad compactada.

3.4.18 Propiedades de reconstitución

3.4.18.1 Humectabilidad

La humectabilidad de los microencapsulados se determinó visualmente. Se vertieron 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 ml. Se colocó un embudo de vidrio sobre un soporte de anillo con una altura de 10 cm entre el fondo del embudo y la superficie del agua. Se colocó un tubo de ensayo dentro del embudo para bloquear la abertura inferior del mismo. Se colocó la muestra de polvo (0.1 g) alrededor del tubo de ensayo y luego se levantó el tubo mientras se ponía en marcha el cronómetro al mismo tiempo. Por último, se registró el tiempo que tardaba el polvo en humedecerse por completo, (evaluado visualmente como todas las partículas de polvo penetraban en la superficie del agua) de acuerdo a Jinapong et al. (2007).

3.4.18.2 Higroscopicidad

Se determinó higroscopicidad siguiendo la metodología de Caí y Corke (2000), con algunas modificaciones, se pesaron 0.1 g de cápsulas de los tratamientos, T1, T2, T7 y T8, se almacenaron en recipientes herméticos con una humedad relativa de 81% (Na_2SO_4) a 25° C. Después de una semana se pesaron y se calculó la higroscopicidad, multiplicado por 100, para ser expresada como g/100 g y se determinó con la ecuación 12.

$$X_e = m_{eq} - m_s / m_s \quad (12)$$

Donde:

X_e = Humedad de equilibrio en base seca

M_{eq} = Masa de la muestra en el equilibrio, (g)

M_s = Masa de la muestra seca, (g)

3.4.19 *Análisis microestructural de los microencapsulados de los tratamientos de C. betacea*

3.4.19.1 Microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM)

Los tratamientos microencapsulados de T1, T2, T7 y T8, se colocaron en tubos de aluminio con cinta conductora de carbono de doble cara y fueron observadas directamente bajo un Microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM) (Carl Zeiss, EVO LS10, Alemania) con un voltaje de aceleración de 30 kV y una presión de 100 Pa. Se utilizó un detector de electrones retro dispersados (NTS BSD), las imágenes se obtuvieron en escala de grises y se almacenaron en formato TIFF con una resolución de 1024 x 768 píxeles. Se observaron directamente los muñones y se capturaron imágenes con 500× y 1000× en formato TIFF (2048 × 1536 píxeles). El análisis del tamaño de partícula se realizó con el software Imagej (1.53e) a 30 encapsulados de cada tratamiento con una magnificación de 1000× (con mayor tamaño) para obtener el promedio del diámetro de las microcápsulas obtenidas del fruto *C. betacea*.

3.4.19.2 Análisis sensorial del polvo (microencapsulados) de bebida reconstituida de la bebida de *C. betacea*.

El perfil sensorial de la bebida en polvo desarrollada, se realizó utilizando pruebas de aceptabilidad con una escala de 9 puntos a un panel de 30 jueces no entrenados de las proporciones (1:4 y 1:3), previamente fueron reconstituidas de la siguiente manera: se pesaron 37.5 g de cada uno de los encapsulados, se agregaron 3 g de edulcorante sintético, marca Splenda® y se mezclaron en 250 mL de agua; posteriormente, a cada miembro se le entregaron 2 vasos cada uno con 8 mL de cada proporción, correspondiente a 1:4 y 1:3 de las bebidas reconstituidas. Los miembros del panel calificaron las 2 muestras en los

atributos olor, aroma, sabor, textura, apariencia y aceptabilidad general utilizando la escala de 9 puntos, asignando a 1 = Me disgusta muchísimo y 9 = Me gusta muchísimo.

3.4.19.3 Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con nivel de significancia $p < 0,05$ de una vía y se compararon mediante la prueba de Tukey, el programa utilizado fue Minitab, versión 19.1, cada tratamiento se analizó por triplicado en este estudio.

CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión

4.1 Fase I

4.1.1 Análisis Bromatológicos

La Tabla 4.1, muestra la composición proximal de la pulpa y cáscara de *C. betacea*. Se puede observar que los resultados reportados están dentro de los parámetros por otros autores como, Torres, (2012) y Morillas-Ruiz & Delgado-Alarcón (2012), quienes obtuvieron que la humedad de la fruta se encuentra en un rango de entre 85% y 87.72%, lo que se asocia a un alimento perecedero. Las muestra recolectadas de *C. betacea* tuvieron un promedio de humedad del 86.75 % en FPF. El contenido de proteína fue de 0 g, sin embargo, Prohens & Nuez (2001), detectaron valores de 1.5 g a 2.5 g los rangos dependen de la variedad de estudio y estado de madurez de la fruta. La aportación de minerales fue de 1.1%, el potasio, calcio y magnesio representan los minerales con mayor presencia, con un valor de 11 mg (Gil Hernández, 2010).

El porcentaje de azúcares totales en la FPF y FEF obtenido en este estudio fue de 20.5% y 61.3%, respectivamente, estos datos coinciden con lo reportado por Acosta-Quezada et al. (2015), de 28.1 y 52.0/100 g en base seca, a pesar de la variación del índice de madurez del fruto y las condiciones geográficas y ambientales. En lo referente a la TDF de las muestras de FPF y FEF, se obtuvieron valores de 12.62 g/100, Tabla 4.1, este valor fue semejante al obtenido por Morillas-Ruiz & Delgado-Alarcón. (2012) de 13.37 g/100, (Torres, 2012) de 4.10 g, y (Mutalib et al., 2017a) 6.00 g. El método empleado en este estudio nos permitió determinar la TDF como una fracción indigerible del alimento que incluyen polisacáridos, lignina, pectinas, mucílagos y otros componentes menores, tales como polifenoles, ceras, saponinas, fitatos, cutinas y fitoesteroles como parte de la fibra

dietaria (McCleary et al., 2010; Westenbrink et al., 2013).

Dentro de los compuestos bioactivos, la TDF es un nutrimento necesario, diversas investigaciones señalan que aquellos alimentos que poseen al menos 15 % de fibra soluble son capaces de retener varias veces su peso en agua (B.o, 1987; Jaime et al., 2002). Por tanto, *C. betacea*, aporta entre el 4-12 % de fibra de la ingesta diaria de fibra recomendada de 26-38 g/día (Dahl & Stewart, 2015). Además de acuerdo a los resultados en la relación de fibra dietaria soluble y fibra dietaria insoluble *C. betacea* mostró ser una fruta nutritiva por el balance en la fibra alimentaria (Vergara-Valencia et al., 2007).

Además, estas propiedades de solubilidad y viscosidad tienen profundos efectos en la funcionalidad de fibra dietaria, durante el procesamiento de alimentos y en el trayecto gastrointestinal (Mudgil & Barak, 2013). La capacidad de adsorción de grasa es otra de las propiedades importantes de la fibra dietaria soluble con fines de estabilización de emulsiones en el procesamiento de alimentos con alto contenido de grasa, al igual que para observar los efectos fisiológicos en humanos (Yaich et al., 2015).

Tabla 4. 1 Composición bromatológica de Tamarillo pulpa y cáscara *Fibra dietaria total, contenido total de polifenoles y propiedades antioxidantes de FPF.

Parámetros ¹	Pulpa	Cáscara
Humedad	86.75 ± 0.35	68 ± 0.00
Grasa	0.18 ± 0.01	1.71 ± 0.17
Cenizas	1.1 ± 0.02	2.1 ± 0.04
Proteína	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Fibra cruda	3.57 ± 0.09	30.12 ± 0.17
Azúcares Totales	61.30 ± 0.21	20.51 ± 0.01
Fibra dietética soluble	0.12 ± 0.00	0.14 ± 0.01
Fibra dietética insoluble	3.92 ± 0.02	8.44 ± 0.03
*Fibra dietética total	4.04 ± 0.01	8.58 ± 0.00
Compuestos fenólicos ²	206.23±0.4	ND
Capacidad antioxidante ³	6.27 ±0.01	ND
Actividad antioxidante ⁴	131.26 ± 0.00	ND

¹ Todos los análisis se han expresado en peso seco. ² mg de equivalente de catecol por 100 g de muestra seca. ³ ABTS capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), µmol/µmol de Trolox. ⁴ Ensayo DPPH, IC50 (µmol/µmol de ácido ascórbico).

4.1.2 *Actividad antioxidante*

El rendimiento de los extractos etanólicos a partir de FPF y FEF de *C. betacea*, fue de 6.25 y 4.8 % respectivamente. De acuerdo a Duque & Morales, (2005), el rendimiento de la extracción es dependiente del tipo de disolvente empleado, condición asociada a la polaridad del solvente, la composición química del fruto y el tipo de extracción que en este caso fue convencional; algunas de las nuevas tecnologías no térmicas de extracción mejoran el rendimiento.

Por otro lado, los resultados sobre la determinación de compuestos fenólicos del extracto etanólico de FPF de *C. betacea*, fue de 206.23 mg EAG /100 g peso seco. (Vasco et al., 2009), reportaron actividad antioxidante de *C. betacea*, en un rango de 60.3-421.6 mg/100 g peso seco. Dentro de los compuestos fenólicos identificados en *C. betacea*, (Orqueda et al., 2017), reportó flavonoides en pulpa de 223.80 mg/100 g. (Espin et al., 2016) identificaron ácidos fenólicos en pulpa seca 421.6 mg/100g, en cultivos de *C. betacea* en Nueva Zelanda, en epidermis (cáscara) y en pulpa identificaron 12 polifenoles que van de 54.67 a 278.03 mg/100g en su mayoría ácidos fenólicos. La recomendación de la ingesta de flavonoides está entre 250-400 mg/día, considerando la estacionalidad de las fuentes de alimentos (Peluso & Palmery, 2015).

La capacidad antioxidante del extracto a partir de FPF de *C. betacea*, por ABTS, mostró una concentración obtenida de 6.27 $\mu\text{mol/Trolox}$ para inhibir el 50% de los radicales libres, como se muestra en la Tabla 4.1, estos resultados coinciden con lo reportado por Vasco et al. (2009) y (Mertz et al., 2009), indicando valores de 4,2 a 10.3 $\mu\text{mol/Trolox}$, de actividad antioxidante. Los valores obtenidos en esta investigación fueron superiores a lo reportado por Hurtado et al. (2009), de 1.90 $\mu\text{mol/Trolox/g}$ Por lo tanto, *C. betacea* cosechado en la sierra región Nororiental mostró su capacidad de inhibir radicales

libres y su actividad antioxidante. Ordóñez et al. (2010) y Kou et al. (2009), atribuyen dichas actividades a la presencia de polifenoles, flavonoides y vitaminas en el fruto.

Con respecto al porcentaje de actividad antioxidante del extracto etanólico FPF en el método DPPH el % porcentaje de reducción del radical AA, fue de 91.74 a una concentración de 250.00 $\mu\text{g/mL}$, mostró un IC_{50} de 131.26 $\mu\text{g/mL}$, siendo menor que el control con ácido ascórbico (IC_{50} de 780.60 $\mu\text{g/mL}$), la actividad antioxidante se asocia a la presencia de los compuestos fenólicos totales, como se muestra en la Tabla 4.1. En este estudio se evidencia, que se necesita una concentración mayor de ácido ascórbico para lograr la inhibición del 50 % del radical DPPH. Sin embargo, el valor determinado fue menor, en comparación con lo reportado por Mutalib *et al.*, (2017) con un IC_{50} de 800 $\mu\text{g/mL}$ en pulpa de *C. betacea*. La diferencia de valores en ABTS y DPPH de compuestos antioxidantes presentes en los extractos etanólicos de FPF, se debe al tipo de compuestos extrahíbles, hidrofílicos y lipofílicos (Rufino et al., 2010).

4.1.3 Compuestos fitoquímicos

En la Tabla 4.2, se presentan los resultados de las pruebas fitoquímicas, de los extractos etanólicos de FPF y FEF. La presencia de los metabolitos secundarios identificados (flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos, glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas) le confieren a *C. betacea* propiedades de gran interés debido al poder antioxidante que poseen estos compuestos químicos fueron identificados en *C. betacea* por Mutalib et al. (2017b). Por su parte, de Rosso & Mercadante, (2007) mencionan que *C. betacea* es una fruta que posee una buena fuente de compuestos solubles como antocianinas y carotenoides, los cuales actúan como colorantes y antioxidantes naturales, reportando 3 tipos de antocianinas y 16 tipos de carotenoides. Estos compuestos pueden actuar como quelantes de metales y captadores de radicales libres causantes del

envejecimiento cutáneo y daños a otras moléculas como ADN, lípidos y proteínas (Castro-López et al., 2015; Ordóñez et al., 2010).

Tabla 4. 2 Compuestos fitoquímicos de *C. betacea* *

Metabolito	Reactivo	Resultados	
		FPF	FEF
Alcaloides	Mayer	(-)	(-)
	Wagner	(-)	(-)
	Dragendorff	(-)	(+++)
Saponinas	Agua caliente	(-)	(-)
	Rosenthaler	(+++)	(++)
Triterpenos	Acético anhidro	(+++)	(+)
Taninos	Gelatina	(-)	(-)
	Férrico	(-)	(-)
	Shinoda	(+++)	(+++)
Flavonoides	Pew	(+++)	(+++)
	NaOH	(+++)	(+++)
Glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas	Baljet	(+)	(+++)

*Prueba positiva (+++), Prueba intermedia (++) , Prueba baja (+), Prueba negativa (-) Pulpa =FPF, Cáscara=FSF

De igual manera el consumo de frutos y plantas con alto contenido de compuestos fenólicos ejercen un efecto hipolipemiante y antioxidante (Salazar-Lugo et al., 2016), los resultados obtenidos en esta investigación y lo reportado en otros estudios, describen a *C. betacea* como un fruto con potencial antioxidante en pulpa. La presencia de polifenoles en *C. betacea* fue reportado por Espin et al. (2016), identificando al ácido rosmarínico, como un compuesto con importantes propiedades biológicas, antioxidantes, anticancerígenas y control de diabetes. Estos resultados son similares a lo reportado de acuerdo a Orqueda et al. (2017), evidenciando la presencia de flavonoides en *C. betacea* variedad roja, igualmente, (Muñoz Jáuregui et al., 2009) reportó mayor contenido de rutina, ácidos cafeico y clorogénico. Por otro lado, en la revisión bibliográfica realizada por S. Wang et al. (2020), señaló al fruto de *C. betacea* como un alimento potencial por sus propiedades

biológicas, efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antivirales, antibacteriales, antidepresivos, anticancerígenos, además de que los pigmentos naturales que contiene, también suelen estar relacionados con la prevención de enfermedades crónicas (Rajendran et al., 2014).

4.2 Fase II

4.2.1 Métodos Espectroscópicos

4.2.1.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

De las muestras de los extractos a partir de FPF, FEF y DPFC, DEFC, mostraron señales de estiramiento alrededor de $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, características de los grupos hidroxilo presentes en los monómeros de fructosa 2929 cm^{-1} , alcano C-H y bandas de flexión de $1404\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$, C-C, C-O. Para las muestras de los extractos de FEF y DEFC, mostraron señales de estiramiento de $3600\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, correspondiente a los grupos hidroxilo presentes en los monómeros de fructosa, señales en $2900\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ corresponde a metilos y metilenos, y una señal de C=O correspondiente al grupo carbonilo en 1700 cm^{-1} . La obtención de las muestras obtenidas por los dos métodos, no mostraron cambios de señales de estiramientos.

Gannasin, Mustafa, et al. (2015) y Mutalib et al., (2017), reportaron señales de grupos funcionales, identificados en los espectros de FTIR en esta investigación, éstas corresponden a estructuras químicas de 3334 /fenol, 2925 /alcano, 1718 /ácido alifático, 1404 /aromáticos, 1349 /compuesto nitrogenados, 1215 /éter, 1043 /esteres, 923 /ácidos carboxílicos y 775 /aromáticos, lo que se corroboran con lo identificado cualitativamente mediante las pruebas fitoquímicas preliminares. En la Figura 4.1, se observan los espectros de los extractos de a) FPF, b) FEF de infrarrojo y se muestran las señales destacadas de *C. betacea*, corroborado con el perfil estándar de la inulina (Sigma™) con picos característicos de $3270\text{--}2929\text{ cm}^{-1}$ y $1025\text{--}985\text{ cm}^{-1}$.

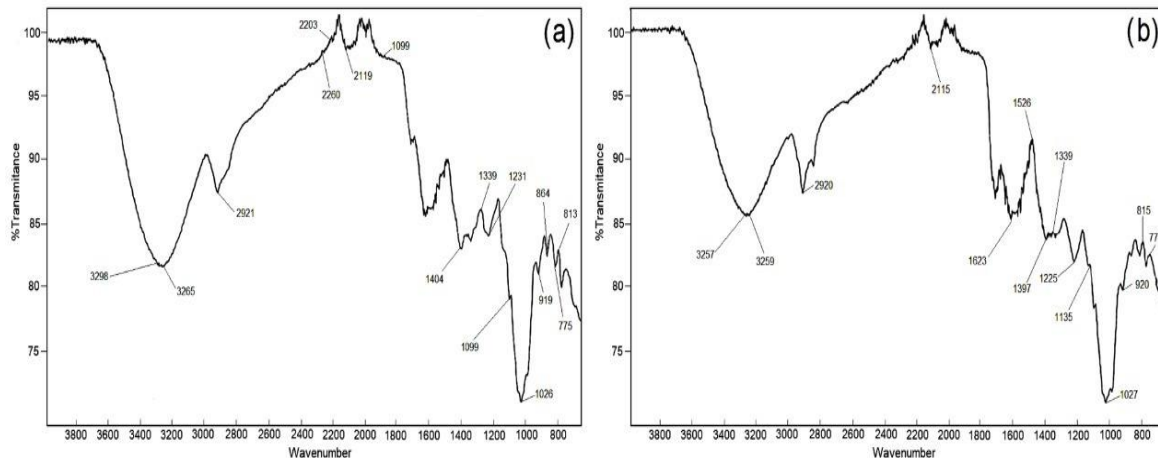


Figura 4. 1 FTIR Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa liofilizada y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.

4.2.1.2 Espectroscopía ultravioleta visible (UV). En la Figura 4.2, se muestran las bandas de absorción identificadas. Para las muestras a) FPF y b) FEF, la absorbancia se midió a 212 nm y 275, debido a que corresponde a la presencia de hidratos de carbono, teniendo valores de 0.089 abs y 0.375 abs, respectivamente, mientras que la FSF se midió a 210 nm y 328 tomando valores 0.145 abs y 0.803 abs, respectivamente. La absorbancia de DPFC, se midió con una longitud de onda de 279 nm, reportando 1.009 de abs. Por último, la absorbancia de DEFC se determinó a 327 nm resultando 0.443 abs. La información anterior se asocia a la presencia de monosacáridos de acuerdo a lo reportado por Kaijanen et al. (2015), donde los picos máximos de absorción para xilosa, son de 245 nm a 255 nm y el espectro UV de glucosa, la absorbancia está cerca de un máximo de 270 nm y significativamente bajo a 270 nm.

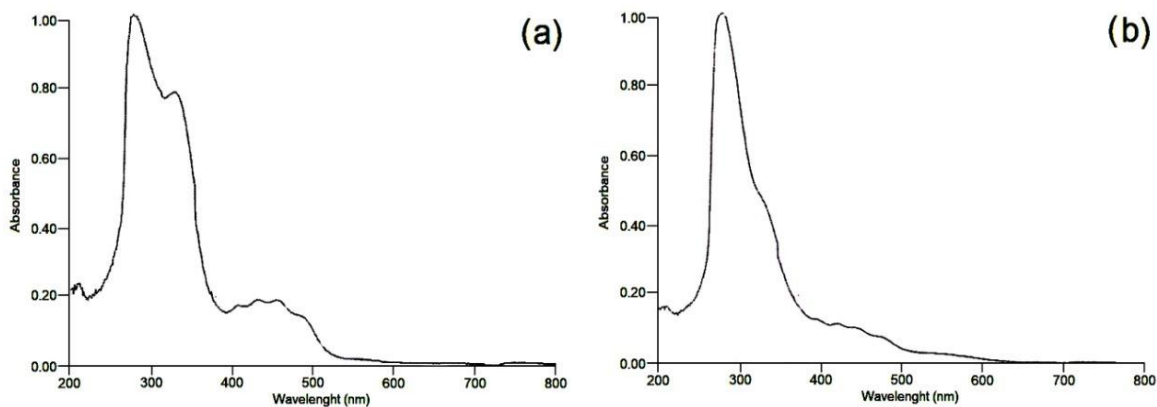


Figura 4. 2 UV Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa liofilizada y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.

4.2.1.3 Espectroscopía Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{HRMN}$. Las muestras a) FPF, b) FEF, en la Figura 4.3, mostraron señales entre 3 y 4 ppm, que corresponden a los diversos carbonos de fructosa y coinciden con lo reportado por Barclay et al. (2012) para la inulina. Las señales en 3.30 ppm y 4.40 ppm fueron identificadas como unidades de fructosa y unidad de glucosa de inulina, así como, en 5.44 ppm glucosa y carbono anomérico, correspondiente al protón $\alpha\text{-}\beta\text{1}$ de la unidad de D-glucopiranosil que se encuentra al inicio de la cadena de inulina.

Al igual que lo expresado anteriormente, con esta espectroscopía podemos corroborar las familias de metabolitos secundarios identificados en las pruebas preliminares y particularmente la presencia de inulina como se muestra en la Figura 4.4, siendo una estructura única, y, lo que le confiere propiedades fisiológicas particulares, debido a su configuración β del carbono anomérico, gracias a su configuración, la inulina no puede ser hidrolizada por la saliva humana (Salinas et al., 2011) y las pequeñas enzimas digestivas del intestino (aquellas con enlaces glucosídicos).

En este sentido, (do Nascimento et al., 2013, 2016) reportó en *C. betacea* la

presencia de un galactoarabinoglucuronoxilano en pulpa, compuesto por monosacáridos principales de glucosa, arabinosa, galactosa, xilosa, ácidos urónicos, mostrando un efecto antinociceptivo en modelos de dolor inflamatorio. Estos resultados se asocian a la fibra dietaria como la presencia de pectinas, siendo los principales componentes de la fracción soluble de la fibra en pulpa (do Nascimento et al., 2013 y Martin et al., 2021).

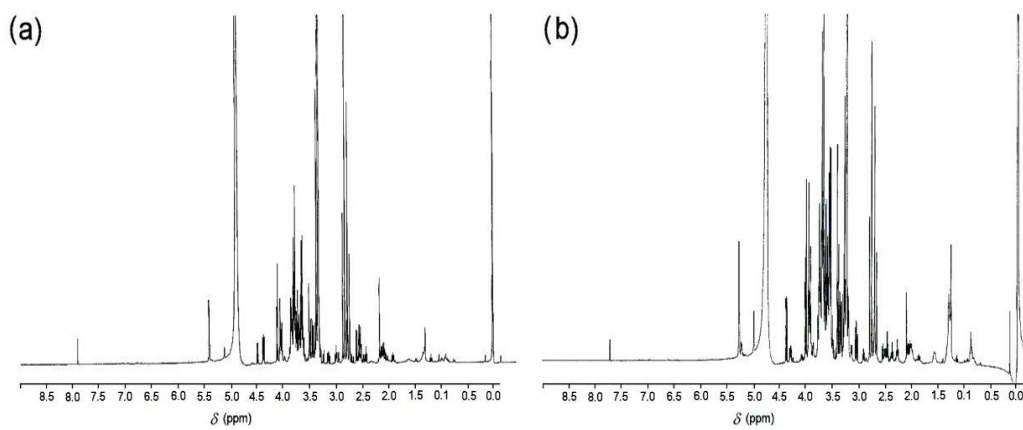


Figura 4. 3 ¹H RMN Espectros de tamarillo (a) FPF harina de pulpa y (b) FEF harina de cáscara liofilizada.

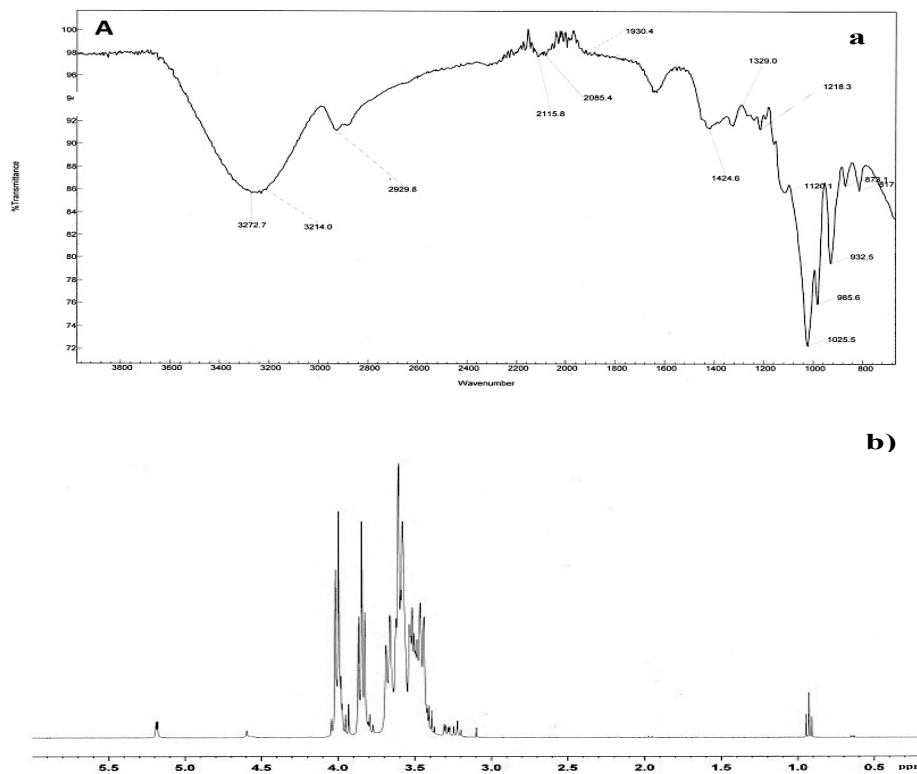


Figura 4. 4 IR y 1HRMN Espectro de Inulina * a) IR b) 1HRMN, 400.13 MHz, TMS como estándar interno.

4.2.2 *Puntaje de crecimiento bacteriano y actividad prebiótica*

Debido a que la efectividad de un prebiótico depende de su capacidad de ser asimilado selectivamente y permite el crecimiento de organismos específicos, las muestras DPFC y DEFC fueron utilizadas como sustrato para evaluar su actividad prebiótica. Los índices prebióticos se basaron en cambios en las poblaciones bacterianas, asimilación del sustrato y tasas de crecimiento, asignando un efecto positivo o negativo en el índice calculado. Este método es relativamente rápido para evaluar la capacidad de un prebiótico. En la Tabla 4.3, se muestran los resultados de la asimilación de los sustratos por las BAL, donde se evidencia que ambos sustratos fueron asimilados por *L. plantarum*, *L. casei* y *L.*

paracasei. Se mostró una actividad prebiótica significativamente mayor en *L. plantarum* tanto para DPFC como para DEFC, obteniendo valores de 1.49 y 1.30 respectivamente, sin mostrar diferencias significativas entre ellas ($p=0.5482$). En el caso de *L. casei* y *L. paracasei* no se detectó actividad prebiótica utilizando la cáscara de *C. betacea*, sin embargo, obtuvieron valores de 0.08 y 0.33 utilizando la pulpa, siendo significativamente menores a los obtenidos por *L. plantarum* ($p=0.0001$).

La puntuación más alta para la asimilación del sustrato DPFC por las BAL, fue para *L. plantarum*, mientras que la puntuación más baja fue para *L. casei* con una puntuación de 0.08, indicando que si hay diferencia significativa ($p<0.0001$). Huebner *et al.* (2007) reportó diferentes valores de actividad prebiótica en diferentes microorganismos, empleando prebióticos comerciales, entre ellos inulina, reportando para *L. plantarum* 4008 un puntaje de actividad prebiótica de 0.82 y para *L. paracasei* 1.17, en este mismo estudio evidenciaron para *B. bifidum* puntuaciones que van desde 0.2 a 0.4. Diaz-Vela *et al.* (2013), obtuvo un score de actividad prebiótica para *L. rhamnosus* GG con harina de piña y cactus pear con valores de 0.19 y 0.21 respectivamente.

Por otro lado, el estudio de las densidades celulares se observan en la Tabla 4.4, para las BAL *L. casei* y *L. plantarum*, crecidas en las muestras de DPFC Y DEFC, comparadas contra el control (glucosa). Los resultados mostraron un incremento significativo en la población de las tres bacterias cuando se utilizó pulpa y cáscara de *C. betacea* como sustrato, en comparación relación con la glucosa. La utilización de *C. betacea* como fuente de carbono para lactobacilos ya había sido reportada por Gannasin, Mustafa, *et al.* (2015) mostrando recuentos de la población bacteriana de *Lactobacillus* durante 24 horas, contra un control con inulina, reportando poblaciones iniciales de 6.70 ± 0.03 CFU/mL y finales de 6.84 ± 0.09 CFU/mL, mientras que en la inulina se reportó

un conteo inicial de 6.75 ± 0.02 CFU/mL y final de 6.90 ± 0.05 CFU/mL.

Por otro lado, Gannasin, Mustafa, et al. (2015) y do Nascimento et al. (2016) reportaron la presencia de polisacáridos en pulpa y mucílago de *C. betacea*, identificados como 2 hidrocoloides, siendo una pectina asociada a la proteína arabinogalactano de bajo peso molecular, obtenido del mucílago que recubre la semilla, y, un polisacárido hemicelulósico de alto peso molecular de la pulpa, considerando al fruto de *C. betacea* como un ingrediente alimentario potencialmente prebiótico.

Los sustratos disponibles para la asimilación (fermentación) colónica, son almidones y fibras dietéticas tales como las pectinas, fibra soluble y los xilanos, ya que son resistentes a la acción de las amilasas pancreáticas y pueden ser degradadas por las enzimas bacterianas. En este sentido, las muestras de *C. betacea*, DPFC y DEFC utilizadas en esta investigación, evidencian tener potencial como ingrediente alimentario prebiótico para las BAL obtenidas del pulque, estimulando su crecimiento, debido a las estructuras químicas del fruto identificadas y asociadas a los prebióticos similares reportados en inulina, compuestos que contienen algunas especies de frutas y verduras, que pueden ser utilizados para modular la microbiota intestinal incluyéndolos en la dieta, y que importantes para modular la composición y el metabolismo (Chung et al., 2017).

Tabla 4. 3 Actividad prebiótica de *C. betacea*

Sustrato/Harina	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. paracasei</i>	<i>p</i>
DPFC	0.08 ± 0.00 c	1.49 ± 0.01 a	0.33 ± 0.01 b	0.0001
DEFC	-0.35 ± 0.02 b	1.30 ± 0.01 a	-0.02 ± 0.01 c	0.0001
<i>p</i>	0.0001	0.5482	0.0002	

a,b Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). DPFC= harina de pulpa deshidratada por convección, DEFC = harina de epicarpio deshidratada por convección.

Tabla 4. 4 Sustrato/Harina *C. betacea*

Cepa	Sustrato/Harina	N(Log CFU mL-1)		<i>p</i>
<i>L. casei</i>	DPFC	8.47	0.37a	0.004
	DEFC	8.59	0.22a	
	Control	7.29	0.16b	
<i>L. paracasei</i>	DPFC	6.98	0.27a	0.046
	DEFC	6.75	0.22ab	
	Control	6.36	0.21b	
<i>L. plantarum</i>	DPFC	9.28	0.37a	0.000
	DEFC	9.63	0.22a	
	Control	6.37	0.16b	

a,b Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). DPFC= harina de pulpa deshidratada por convección, DEFC = harina de epicarpio deshidratada por convección.

4.3 Fase III

4.3.1 Procesos de los jugos de *C. betacea*, para la obtención de microcápsulas secados por atomización

En la Figura 4.5 se muestra el diagrama de elaboración de bebidas con *C. betacea*, por ajuste de °Bx-MD de acuerdo al diseño de las proporciones descritos en la Tabla 3.1, para la obtención de los encapsulados por secado por aspersión.

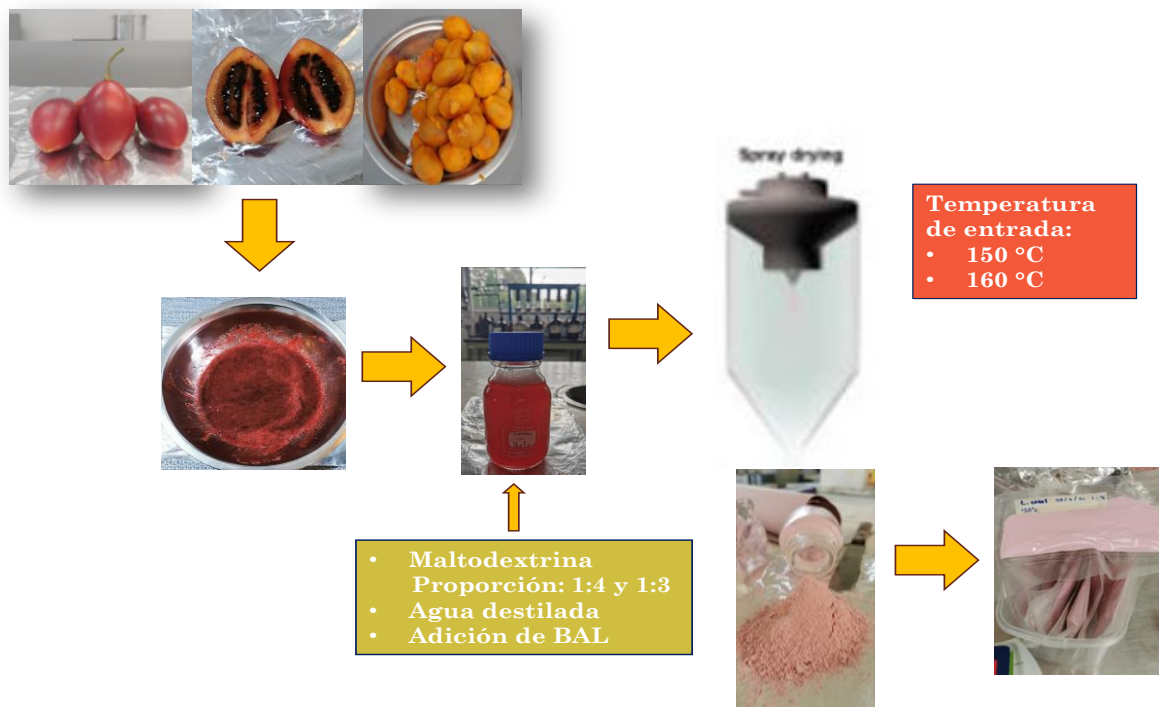


Figura 4. 5 Diagrama de flujo para la obtención de los encapsulados a partir de las bebidas de *C. betacea*.

Las bebidas a base de *C. betacea*, fueron elaboradas de acuerdo al esquema del diseño experimental, bajo los tratamientos mostrados en la Tabla 3. 2, para tal efecto, se empleó la técnica de microencapsulación, con la finalidad de proteger a los compuestos bioactivos de *C. betacea* y las BAL con potencial probiótico inoculadas, a través de una película polimérica, que encapsule de manera uniforme (capa) y controle su liberación (Rezende et al., 2018), por atomización y obtener cápsulas de tamaño micrométrico (Ozkan et al., 2019), el material de pared utilizado fue MD, para proteger los ingredientes funcionales, durante la encapsulación de las bebidas desarrolladas y con el fin de lograr la estabilidad en los compuestos, sin embargo este proceso está sujeto a las características del secador como el tipo de boquilla, las temperaturas de operación, la velocidad de flujo y la presión aplicada (Wei et al., 2019). Además los microencapsulados de esta técnica poseen

características y propiedades iniciales que dependen del tipo de matriz alimentaria (M. Zhang et al., 2020). En este sentido y de acuerdo a las estructuras químicas del tamarillo, la fruta posee compuestos bioactivos, como hidrocoloides que fueron reportados por Gannasin et al. (2015), como arabinogalactano, obtenido del mucílago y hemicelulósicos de la pulpa y carbohidratos como, xilosa, arabinosa y fructosa, además de fibra soluble, las estructuras identificadas como la inulina y presencia de pectina cítrica de acuerdo a Reyes-García et al. (2021), que seguramente apoyaran en la interacción en las diferentes estructuras de los grupos funcionales para la obtención de los microencapsulados, no obstante, aunque el secado en frutas aumenta la estabilidad del producto y mejora la manipulación, puede producir pérdidas de tipo nutracéutico, debido a las temperaturas empleadas en el proceso (Santos et al., 2019).

La concentración de biomasa de las BAL inoculadas en las bebidas desarrolladas con *C. betacea*, se debe a que se ha incrementado la venta de probióticos no lácteos tales como: horneados, cárnicos, productos a base de frutas y leguminosas, entre otros, como alternativa para disminuir los riesgos relacionados con la intolerancia a la lactosa, las alergias producidas por proteínas lácteas y consumo de grasas saturadas y colesterol (Diya et al., 2018). Por tal motivo, en esta investigación se inocularon BAL con potencial probiótico al 2% a partir de un pre-inoculo inicial de 1.5 de DO₆₀₀, para asegurar la supervivencia con un número significativo de 10⁶ UFC/g a 10⁸ UFC/g, sin embargo, el número va a variar de una cepa a otra (Martins et al., 2013).

El crecimiento y la supervivencia de las BAL están determinados por las propiedades de la matriz alimentaria, debido a las siguientes características: disponibilidad de agua, pH, entre otras y condiciones de almacenamiento temperatura, humedad relativa y atmósfera, (Tripathi & Giri, 2014). El diseño experimental de la Tabla 3. 2, (protocolo de

los tratamientos) fue desarrollado, considerando algunas características descritas por estos investigadores, más los ensayos previos realizados en esta investigación. El secado por aspersión para la microencapsulación de los compuestos bioactivos del tamarillo, más la adición de BAL, fue para lograr un efecto simbiótico y para construir una barrera entre el componente encapsulado y el medio ambiente, para evitar reacciones químicas de deterioro y el contacto del encapsulado con otros ingredientes, además de contribuir en los adelantos en el área de nuevas tendencias en el desarrollo e innovación en el ámbito alimentario. A través del uso materias primas de la región norte del Estado de Puebla, México es para darle valor agregado a *C. betacea*. Además de ser un método económico y efectivo en la protección de materiales a través de la pulverización, incluyendo condiciones higiénicas durante el procesamiento, tiempo corto de contacto, comparado con otras tecnologías, (Sagar & Suresh Kumar, 2010).

4.3.2 Evaluación de supervivencia de las BAL con potencial probiótico encapsulados durante el almacenamiento en refrigeración.

En la Tabla 4. 5 se muestra la supervivencia de las BAL encapsuladas reportadas como Log N UFC/g, durante su almacenamiento en refrigeración a 4 °C; se muestran los resultados de los conteos antes del secado (jugo), y después del secado a los días 0 y 35. Los encapsulados obtenidos de las bebidas del jugo a base de pulpa de tamarillo, secados por aspersión, mostrarán valores de viabilidad significativa ($p < 0.05$) para los T1, T2, T3, T4, T5 y T6 de la proporción 1:4 con °Bx-MD, en un rango de 10^8 UFC/g a 10^6 UFC/g respectivamente, los resultados de esta investigación, coinciden de acuerdo con Martins et al. (2013) y para los tratamientos T7, T8, T9, T10, T11 y T12 de la proporción 1:3 con °Bx-MD, obteniendo viabilidad significativa en un rango de 10^9 UFC/g a 10^8 UFC/g

respectivamente. Por lo que, se asume que las variables de temperatura a 150 °C y 160 °C, no influyeron en la viabilidad de las BAL con potencial probiótico.

Además, se puede observar que en la concentración de °Bx-MD 1:3 y para la concentración de °Bx-MD 1:4, se redujeron 3 ciclos logarítmicos de acuerdo a las BAL inoculadas antes del secado, véase Figura 4. 6. Para ambas proporciones de °Bx-MD y TE en los tratamientos T5, T6 y T11, se vieron afectadas por las variables de proceso y la mala manipulación de los factores externos, influyendo en la viabilidad de las UFC/g del *L. paracasei*, ya que se encuentra en el límite, (10^6 UFC/g), de lo requerido para considerarse un probiótico, cuando se consuman en cantidades adecuadas por arriba de 10^7 UFC/g, y puedan ejercer, beneficios a la salud (Anal & Singh, 2007). Otros investigadores han reportado valores de viabilidad de microorganismos encapsulados por atomización dentro de un rango de 10^7 UFC/g a 10^{10} UFC/g, destacando *L. paracasei* (Ilha et al., 2015), en *L. casei*, reportaron la reducción de 1 ciclo logarítmico, durante almacenamiento (Hernández-Carranza et al., 2014). Sin embargo, la encapsulación no asegura la viabilidad total de microorganismos, haciendo necesaria en algunos casos la incorporación de prebióticos naturales para mejorar la protección y la viabilidad de los microorganismos, como almidones modificados, procedentes de diversas fuentes botánicas, han sido utilizados para proteger a los probióticos (Avila-Reyes et al., 2014). Otro factor a considerar y de acuerdo a Alfaro-Galarza et al. (2020), los poros más grandes de las microcápsulas permiten el flujo de fluidos a través de la microcápsula, lo que afecta a la viabilidad de los microorganismos encapsulados.

Con respecto a la EE % en la Tabla 4. 5, se observa que, para la proporción 1:4 °Bx-MD para todos los tratamientos, se exhiben rendimientos en un rango de 60 % a 70 % y para los tratamientos T7, T8, T9 y T10 de la proporción 1:3 con °Bx-MD, se obtuvieron

rendimientos del 80 % de eficiencia de encapsulación, por tanto se evidencia que si muestran diferencia significativa ($p < 0.05$), siendo superiores a lo reportado por Ávila-Reyes et al. (2014), la diferencia de valores, puede atribuirse a los diferentes materiales de pared, la misma investigación, mostró para inulina valores entre 43 % y 54 % y con almidón de arroz reportaron valores de 69.82 % y 85.88 % (Alfaro-Galarza et al., 2020). Así mismo, Rosa et al. (2019) analizó el extracto de arándano microencapsulado por atomización y reportaron valores de EE % entre 77.05 % y 82.53% utilizando maltodextrina como agente encapsulante en diferentes proporciones.

Tabla 4. 5 Evaluación de supervivencia de BAL encapsuladas (Log N UFC/g), durante su almacenamiento en refrigeración a 4 °C y EE %.

Tratamientos	Log N UFC/g ajuste inicial	Día 0	Día 35	Eficiencia de encapsulación (%)
°Bx-MD 1:4				
T1	10.60 ^A	8.600±0.000 ^{eB}	7.350±0.071 ^{cdC}	69.350±0.636 ^{bc}
T2	10.60 ^A	8.600±0.000 ^{eB}	7.550±0.071 ^{bcC}	71.450±0.354 ^{bc}
T3	10.20 ^A	8.700±0.000 ^{cdeB}	7.600±0.141 ^{bc}	73.550±1.344 ^b
T4	10.20 ^A	7.800±0.000 ^{gB}	7.550±0.071 ^{bcB}	72.850±1.626 ^{bc}
T5	10.55 ^A	7.500±0.071 ^{cdB}	6.700±0.000 ^{hC}	69.750±0.071 ^{bc}
T6	10.55 ^A	6.600±0.000 ^{hB}	6.400±0.000 ^{eC}	60.550±0.212 ^d
°Bx-MD 1:3				
T7	10.28 ^A	9.000±0.000 ^{bB}	8.500±0.000 ^{aC}	81.450±1.768 ^a
T8	10.28 ^A	8.750±0.071 ^{cdB}	8.700±0.000 ^{aB}	83.350±1.768 ^a
T9	10.27 ^A	8.800±0.000 ^{cB}	8.550±0.071 ^{aC}	82.200±1.556 ^a
T10	10.27 ^A	8.400±0.000 ^{fC}	8.600±0.000 ^{aB}	82.400±1.838 ^a
T11	10.54 ^A	9.700±0.000 ^{aB}	6.300±0.000 ^{eC}	59.600±0.283 ^d
T12	10.54 ^A	8.650±0.071 ^{deB}	7.200±0.000 ^{dC}	68.100±.283 ^c

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

^A Las medias que comparten letra en la misma fila, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

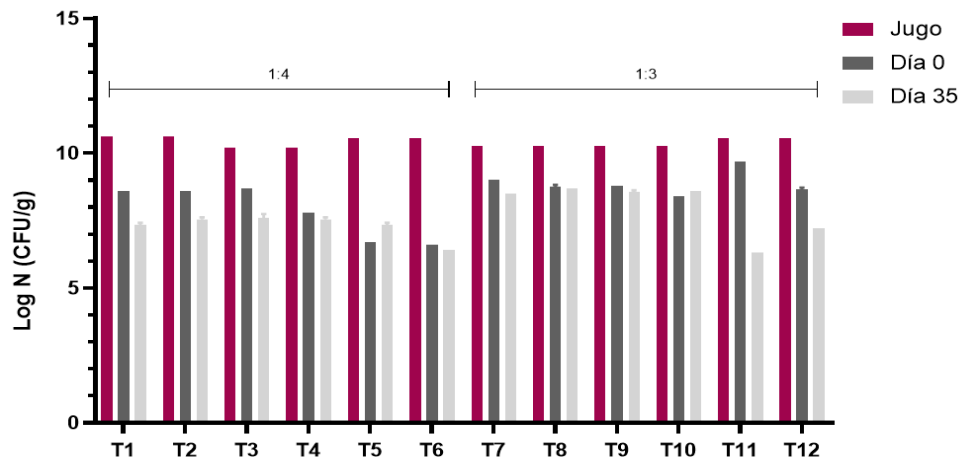


Figura 4. 6 Viabilidad de BAL encapsuladas (Log N UFC/g), durante su almacenamiento en refrigeración a 4 °C

4.3.3 Supervivencia de (BAL) encapsuladas, bajo condiciones simuladas gastrointestinales in vitro.

Los tratamientos de *L. plantarum* y *L. caseí*, cumplen con la supervivencia de microorganismos con potencial probiótico, reportados en esta investigación, porque contienen las cantidades adecuadas, para conferir beneficios saludables a los consumidores (10^6 , 10^7 UFC/g o mL) (FAO/OMS, 2002).

De acuerdo y considerando los factores que afectan a la viabilidad, como el pH y el contenido de ácido láctico y acético, peróxido de hidrógeno y el contenido de oxígeno disuelto en el producto (Picot & Lacroix, 2004), son razones, para la industria alimentaria, para proteger a los microorganismos antes y después del consumo con el fin de garantizar su impacto en el consumidor. En este sentido, se suman, los compuestos bioactivos presentes en el tamarillo, en la mezcla de las bebidas desarrolladas, ya que en la pulpa, se

ha reportado la presencia de prebióticos, conocidos como fibra soluble, por lo tanto, se encuentran, dentro de la misma cápsula, mediante un complejo de coacervación en la microencapsulación, (H. Li et al., 2021). Asumiendo que se garantiza la resistencia a la acidez del estómago y fermentación por parte de las bacterias intestinales, por lo que ofrece beneficios para la salud dentro del sistema digestivo, utilizando a los prebióticos como fuente de energía y como sustratos metabólicos y micronutrientes (Chávarri et al., 2010). Otro prebiótico utilizado es la inulina, (Haghshenas et al., 2015), identificado por espectroscopia IR en la harina de pulpa liofilizada de *C. betacea*, además de la pectina cítrica, identificada en los espectros reportados por Reyes-García et al. (2021)

En todos los tratamientos de las proporciones 1:4 y 1:3 °Bx-MD, con TE de 150 °C, 160°C, las cepas de *L. casei*, mostraron un ligero pero significativo ($p < 0,05$) crecimiento mayor que *L. plantarum*, lo que indica que, en las condiciones de encapsulación, *Lactobacillus casei*, protegieron a la cepa al igual que a *L. plantarum*, no se vieron afectados por las condiciones de proceso de atomización y el material de pared, permitió liberar las cepas, en cada una de las fases y además con las cantidades adecuadas por arriba de 10^7 UFC/g, como se observa en la Tabla 4. 6 por lo que, se asegura un efecto benéfico al consumidor (10^6 , 10^7 UFC/g) (FAO/OMS, 2002). Se ha informado que *L. plantarum* tiene una gran resistencia al estrés en condiciones simuladas (Verónica et al., 2016), en esta investigación, se corrobora lo mismo para *L. plantarum*, que mostró resistencia a las condiciones simuladas gastrointestinales al igual que *L. casei* en las distintas fases de simulación digestiva. Por otro lado, la reducción de los ciclos logarítmicos para la cepa *L. paracasei*, puede deberse a la sensibilidad térmica, durante el secado por atomización de la proporción 1:4 °Bx-MD, ya que tiene una menor termorresistencia (60 °C), por lo que se le atribuye un mayor daño (Fernández, 2008), por las TE de esta investigación.

Tabla 4. 6 Evaluación de BAL encapsulados (Log N UFC/g) de *C. betacea*, bajo condiciones de simulación digestiva.

Tratamientos	Encapsulados	FO	FGI	FI
T1	8.60±0.00 ^{eAB}	8.67±0.01 ^{deA}	7.69±0.72 ^{eAB}	7.20±0.00 ^{eB}
T2	8.60±0.00 ^{eB}	9.39±0.09 ^{abcdA}	8.50±0.23 ^{bcdeB}	8.35±0.07 ^{bcdB}
T3	8.70±0.00 ^{cdeD}	9.73±0.02 ^{abcA}	9.44±0.06 ^{aB}	9.20±0.00 ^{abcC}
T4	7.80±0.00 ^{gC}	9.32±0.02 ^{cdA}	8.33±0.04 ^{deB}	5.00±0.00 ^{fD}
T5	6.70±0.00 ^{hB}	9.19±0.01 ^{cdA}	5.11±0.04 ^{fC}	4.55±0.77 ^{fC}
T6	6.60±0.00 ^{hA}	4.54±0.76 ^{fB}	5.02±0.02 ^{fB}	5.00±0.00 ^{fAB}
T7	9.00±0.00 ^{bC}	10.24±0.08 ^{abA}	9.18±0.00 ^{abcdBC}	9.25±0.07 ^{abB}
T8	8.75±0.07 ^{cdC}	9.83±0.02 ^{abcA}	9.22±0.05 ^{abcB}	9.25±0.07 ^{abB}
T9	8.80±0.00 ^{cdD}	10.28±0.02 ^{aA}	9.53±0.01 ^{aC}	9.60±0.00 ^{aB}
T10	8.40±0.00 ^{fC}	10.28±0.02 ^{aA}	9.32±0.02 ^{abB}	9.35±0.07 ^{aB}
T11	9.70±0.00 ^{aA}	8.22±0.05 ^{eB}	8.27±0.01 ^{eB}	8.20±0.00 ^{dB}
T12	8.65±0.07 ^{deB}	9.35±0.07 ^{bcdA}	8.35±0.07 ^{cdeC}	8.30±0.00 ^{cdC}

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

^A Las medias que comparten letra en la misma fila, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$). FO (fase oral), FGI (fase gastrointestinal) y FI (fase intestinal).

4.3.4 Evaluación de actividad antioxidante de los microencapsulados de C. betacea y bajo condiciones gastrointestinales simuladas.

Los encapsulados obtenidos por atomización de los jugos desarrollado a base de *C. betacea* en las proporciones 1:4 y 1:3 correspondientes al material de pared (MD) y temperatura de entrada (TE), no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$), en relación a los mg GAE/100g, presentes en 0.1 g de cápsula, como se observa en la Tabla 4.7 en todos los tratamientos. Se observa que se mantuvo la misma retención de concentraciones de fenólicos, por lo que se puede decir que no redujo la degradación de los fenoles ante los cambios de pH en cada una de las fases, bajo condiciones gastrointestinales, sin embargo, se pueden producir pérdidas nutraceútics entre las temperaturas de proceso de 140 °C y 180 °C (TE) y de 60 °C y 110 °C, temperaturas de salida. De igual forma, Santos et al. (2019), reportaron que la encapsulación redujo la degradación de los antioxidantes en

moras (*Rubus ulmifolius*), ante los cambios del pH.

La selección de un material de pared para la encapsulación depende de la solubilidad del compuesto bioactivo de interés, que puede ser hidrosoluble o liposoluble. Para tal efecto, un material de pared comúnmente utilizado para compuestos bioactivos liposolubles e hidrosolubles es la goma arábiga, y para los compuestos hidrosolubles, la maltodextrina, por lo que podría atribuirse a este hallazgo la baja retención de compuestos fenólicos en esta investigación (Ramakrishnan et al., 2018a).

Tabla 4. 7 Concentración de fenólicos (mgGAE/100g), en los encapsulados de *C. betacea*, durante las distintas fases de simulación gastrointestinal.

Tratamientos	Cápsulas	FO	FGI	FI
T1	0.021±0.007 ^{bA}	0.028±0.000 ^{aA}	0.028±0.002 ^{bA}	0.030±0.003 ^{aA}
T2	0.032±0.005 ^{abA}	0.029±0.001 ^{aA}	0.033±0.008 ^{abA}	0.028±0.001 ^{aA}
T7	0.036±0.007 ^{abA}	0.030±0.003 ^{aA}	0.050±0.006 ^{aA}	0.029±0.000 ^{aA}
T8	0.041±0.005 ^{aA}	0.029±0.002 ^{aBC}	0.041±0.000 ^{abAB}	0.028±0.000 ^{aC}

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

^A Las medias que comparten letra en la misma fila, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$). FO (fase oral), FGI (fase gastrointestinal) y FI (fase intestinal).

4.3.5 *Inhibición del radical DPPH de los encapsulados de C. betacea*

La combinación del material de pared con la interacción de las estructuras químicas de *C. betacea*, se atribuye al resultado de cierta estabilidad sustancialmente mejorada, así como la protección de los compuestos bioactivos (antioxidantes) bajo las condiciones gastrointestinales simuladas, lo que posiblemente se debió a la acción sinérgica de la pulpa con MD. Aunado a que esta tecnología permite la liberación controlada del componente bioactivo y permite el incremento en su biodisponibilidad por parte del organismo de

acuerdo a Lucas et al. (2020) y se puede observar en la en la Tabla 4.8 la liberación de los compuestos en la fase oral y fase gastrointestinal, de esta investigación. Se dice que el material de pared influye en la retención de los compuestos bioactivos de acuerdo a Ramakrishnan et al. (2018b), comentando que los materiales deben de asegurar la biodisponibilidad, debido al tipo de material, por lo que, para la goma arábica hay mayor retención de compuestos tanto hidrosolubles (antocianinas) y liposolubles (carotenoides) y para la MD, solo retiene compuestos hidrosolubles, por lo que, reportaron las retenciones más bajas de antocianinas.

En el presente estudio, se observa en la Figura 4.7 el comportamiento de los antioxidantes; se sabe que las antocianinas, son muy inestables y susceptibles a la degradación, siendo afectados por varios factores como el pH, la temperatura, la luz, el oxígeno, la humedad y la presencia de enzimas. En la fase gástrica, el digestivo era ácido, por lo tanto, era un medio más estable para las antocianinas; sin embargo, en la fracción del duodeno, debido al aumento del pH, las antocianinas que se liberaron en el medio pueden degradarse en carbinol, una forma de pseudo base bajo un pH neutro (Norkaew et al., 2019). En la última fracción del sistema gastrointestinal, se indica pérdida de los compuestos bioactivos. Debido a lo anterior se le atribuye la liberación de los compuestos bajo las condiciones gastrointestinales simuladas.

Tabla 4. 8 Porcentaje de inhibición de encapsulados de *C. betacea*, bajo condiciones de simulación digestiva.

Tratamientos	Cápsulas	FO	FGI	FI
T1	49.39±12.09 ^{aA}	70.63±0.34 ^{aAB}	80.72±5.94 ^{aAB}	34.57±20.08 ^{aB}
T2	33.71±5.37 ^{aA}	69.60±18.17 ^{aA}	71.58±25.97 ^{aA}	42.06±4.84 ^{aA}
T7	28.12±2.15 ^{aB}	73.43±0.37 ^{aA}	64.08±6.79 ^{aA}	16.15±14.76 ^{aB}
T8	58.56±9.38 ^{aA}	70.89±027.79 ^{aA}	74.30±10.46 ^{aA}	23.30±4.02 ^{aA}

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

^A Las medias que comparten letra en la misma fila, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

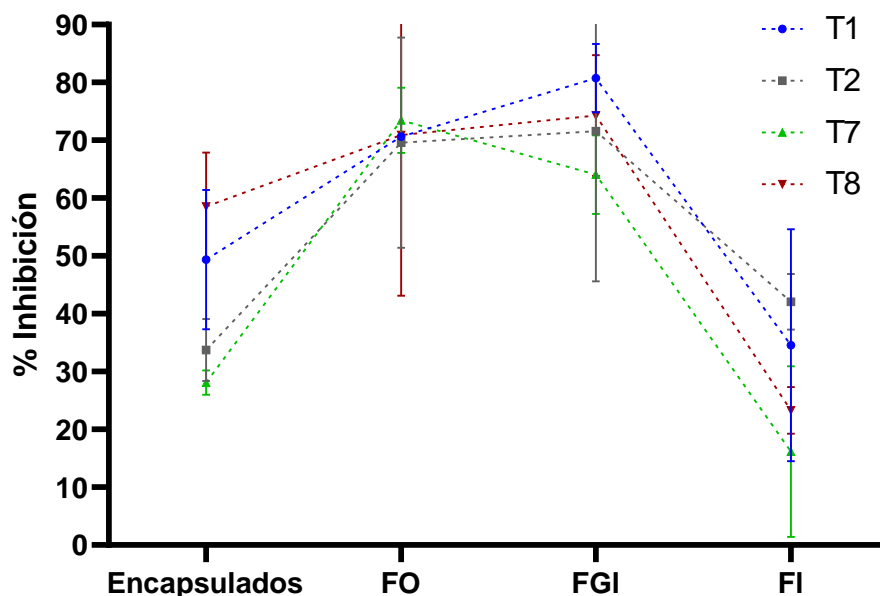


Figura 4. 7 Porcentaje de inhibición del radical DPPH de los encapsulados de *C. betacea*, bajo condiciones de simulación digestiva. FO (fase oral), FGI (fase gastrointestinal) y FI (fase intestinal).

4.3.6 Caracterización fisicoquímica de los microcapsulados de *C. betacea*

Debido a que la mejor eficiencia de encapsulación de las BAL con potencial probiótico, se obtuvo en los T1, T2, T7 y T8 y de acuerdo a las variables de respuesta del proceso, sólo se caracterizaron estas microcápsulas. En la Tabla 4.9, se observan las características de los polvos. La densidad aparente de las microcápsulas, mostró valores similares, por lo tanto, el tamaño de los gránulos en la preparación de la microcápsula, así como la concentración de sólidos, no afectó a la morfología del producto, como la estructura de porosidad de las microcápsulas Fuchs et al. (2006), informaron que la densidad de microcápsulas tiene una estrecha relación con el tamaño de las partículas, ya

que valores de densidad bajos indican tamaños de partícula pequeños. Por lo que, las características, están relacionadas con la solubilidad. Las propiedades de flujo y de reconstitución de los encapsulados de *C. betacea*, no mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) en general, entre los tratamientos, véase la Tabla 4.9. De hecho, los valores obtenidos para los encapsulados de *C. betacea*, son similares a las características de los polvos de una bebida de frutas con orujo de carambola obtenida mediante atomización, reportados por Saikia et al. (2020), para densidad a granel reportó 0.416 g/mL, densidad compactada 0.506 /mL e índice de Hausner 1.21.

Tabla 4. 9 Propiedades de flujo y de reconstitución de los encapsulados de *C. betacea*.

TRT	DA (g/cm ³)	DC (g/cm ³)	IH	% C	Higroscopicidad (g/100g)	Humectabilidad
T1	0.567±0.018 ^a	0.643±0.023 ^a	1.128±0.005 ^a	11.329±0.377 ^a	0.307±0.002 ^a	2.187±0.031 ^a
T2	0.477±0.023 ^b	0.617±0.023 ^a	1.288±0.102 ^a	22.027±6.327 ^a	0.306±0.001 ^a	2.097±0.042 ^b
T7	0.517±0.015 ^{ab}	0.607±0.040 ^a	1.164±0.099 ^a	13.684±7.591 ^a	0.283±0.001 ^b	1.310±0.027 ^c
T8	0.537±0.032 ^a	0.617±0.023 ^a	1.145±0.097 ^a	12.222±7.286 ^a	0.279±0.002 ^c	1.173±0.031 ^d

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$). DA: densidad aparente; DC densidad compactada; IH: Índice de Hausner; %C: compresibilidad. TRT: tratamientos

La Tabla 4.10, muestra el contenido de humedad de los encapsulados en las dos proporciones de °Bx-MD 1:4 y 1:3, en las que no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Respecto a la actividad de agua, T1, T7 y T8, no mostraron diferencia significativa entre ellos, mientras que T2 mostró diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos. El contenido de humedad de los encapsulados con bacterias con potencial probiótico es un factor crítico, que influye en la estabilidad de las bacterias durante el almacenamiento. Los valores reportados en esta investigación están en un rango de 2.50 a 4.20 % humedad, valores similares a lo reportado para las microcápsulas de *L.*

plantarum obtenidas por secado por aspersión en donde utilizaron un sistema microencapsulante binario (alginato de sodio y gelatina de alto ocilo) como material de pared (Rajam & Anandharamakrishnan, 2015), demostrando en esta investigación la eficiencia de MD y TE. Con respecto a la humedad, los resultados se encuentran por debajo de lo reportado por Alfaro Galarza (2019), empleando 2 almidones diferentes como material de pared, obteniendo valores de 5.73 % y 7.05 %, respectivamente, mientras que en Aw, reportó valores de 0.290 y 0.308, respectivamente. En esta investigación, se obtuvieron valores de Aw de 0.28 a 0.33. De acuerdo a Ananta et al. (2005), para que se pueda considerar un polvo, la humedad no debe estar por arriba del 7 % y por tanto su vida de anaquel no se vea afectada.

El tamaño de las partículas de las cápsulas, dependen del proceso y de las variables independientes de MD y TE utilizadas para obtener los encapsulados, ya que de estos depende el tamaño y la morfología de los polvos. Como se observa en las Figuras 4 y 5, se obtuvieron formas esféricas y tamaños de partículas en un rango de 5.7 a 7.7 μm , tal como se muestran en la Tabla 4.10 observando que el tamaño de las partículas de los tratamientos no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$). Según Alamilla-Beltrán et al. (2005), cuando se observan formaciones de superficies dentadas de los microencapsulados, esto se atribuye a la contracción de las partículas durante el proceso de secado por temperaturas de entrada bajas o altas, además, la contracción también se presenta cuando la morfología del polvo se observa ponchada, lo que es causado por la rápida evaporación y la alta presión que se encuentra en el interior de las partículas; de acuerdo a lo anterior, en esta investigación no se experimentaron fenómenos físicos no deseados.

Tabla 4. 10 Parámetros fisicoquímicos de los encapsulados de *C. betacea*.

Tratamientos	Color			Aw 25 °C	Humedad (%)	Tamaño de partícula (µm)
	L	a	b			
°Bx-MD 1:4	22.847±0.660 ^c	2.363±0.243 ^c	1.710±0.193 ^e	ND	72.025±0.007 ^b	ND
T1	93.817±0.170 ^a	21.010±0.075 ^b	3.457±0.012 ^b	0.326±0.002 ^{ab}	2.712±1.347 ^c	7.251±1.535 ^a
T2	92.197±0.352 ^a	21.247±0.047 ^{ab}	3.897±0.025 ^a	0.285±0.006 ^c	3.729±0.000 ^c	5.706±1.295 ^b
°Bx-MD 1:3	21.123±1.775 ^c	1.293±0.064 ^d	1.327±0.097 ^f	ND	79.555±0.021 ^a	ND
T7	88.110±2.752 ^b	21.440±0.056 ^a	2.370±0.125 ^d	0.330±0.000 ^a	4.198±0.018 ^c	6.315±1.288 ^b
T8	91.703±0.180 ^{ab}	21.443±0.150 ^a	3.107±0.097 ^c	0.321±0.000 ^b	3.918±0.003 ^c	7.786±1.401 ^a

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa (p<0.05).

ND: No determinado

En la Tabla 4.10, se observan los cambios en los valores L, a, b entre el alimento (jugo) y las cápsulas de *C. betacea*, los cuales mostraron una diferencia significativa (p<0.05). Se muestran valores aumentados de L en las cápsulas con respecto a los jugos y para los valores de a y b se observó un ligero aumento en las cápsulas obtenidas por atomización en todos los tratamientos (T1, T2, T7 y T8). En general, el valor ΔE fue por arriba de 70.91±0.91. Esta técnica permitió también calcular las coordenadas de croma o pureza de color (C*), el matiz o ángulo (H°), como se observa en la Tabla 4.11. Los parámetros de color son atributos físicos muy importantes, que resultan afectados por las altas temperaturas del secado (Caparino et al., 2012). Las variables independientes (VI), utilizadas en el presente estudio, como la TE, no afectó, el color de las microcápsulas de los tratamientos obtenidos de la pulpa, en comparación con los residuos de acerola, reportados por Rezende et al. (2018); en dicha investigación se evidenció una diferencia de color (más oscuros) en los valores de luminosidad (L*) como consecuencia del proceso de atomización por efecto del tratamiento térmico con TE entre 120 °C y 180 °C y temperaturas de salida que oscilan entre 70 °C y 90 °C.

Tabla 4. 11 Atributos de color de los encapsulados de *C. betacea*

Tratamientos	Color			
	Ángulo matiz (°H)	Cromaticidad	Índice de oscurecimiento	Cambio total de color (ΔE)
T1	89.20±0.003 ^b	21.77±0.30 ^a	21.94±0.08 ^c	73.24±0.30 ^b
T2	89.30±0.003 ^a	21.60±0.02 ^b	22.85±0.08 ^a	71.82±0.45 ^c
T7	88.86±0.044 ^d	21.56±0.05 ^b	22.68±0.05 ^b	70.91±0.91 ^d
T8	89.15±0.007 ^c	21.75±0.00 ^a	21.99±0.00 ^c	74.45±0.18 ^a

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

ND: No determinado

4.3.7 Análisis microestructural de los microencapsulados de los tratamientos de *C. betacea*

Las microestructuras de los microencapsulados de *C. betacea*, se muestran en las Figuras 4.8 y 4.9. En general, los polvos obtenidos de los jugos atomizados muestran formas esféricas y diferentes tamaños en las partículas, debido a las proporciones de °Bx-MD, y también pueden verse afectadas por las condiciones de operación de proceso (Chong et al., 2014). En general, no hubo diferencias marcadas en la morfología entre los polvos de *C. betacea*, a pesar de las diferentes proporciones con VI de MD y TE. Los tratamientos mostraron tamaños de partículas similares, como se observa en la Tabla 5 de los parámetros fisicoquímicos de los encapsulados de *C. betacea*. Los tratamientos T1 y T8 no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) en relación al tamaño de partícula al igual que los T2 y T7, sin embargo T1 y T2, sí muestran diferencia significativa y también entre T7 y T8. Vieira da Silva et al. (2016) utilizaron almidón con ácido octenil succínico (OSA) y goma arábiga, como encapsulantes con las mismas proporciones, obteniendo tamaños de partícula diferentes de $16.0 \pm 0.0 \mu\text{m}$ y $23.3 \pm 0.4 \mu\text{m}$. Por lo tanto, en este trabajo de investigación al no mostrar diferencias significativas con el material de pared, además la fibra soluble presente en el fruto de *C. betacea*, se infiere que no habría diferencia en cuanto a la liberación de microorganismos y compuestos bioactivos de los encapsulados.

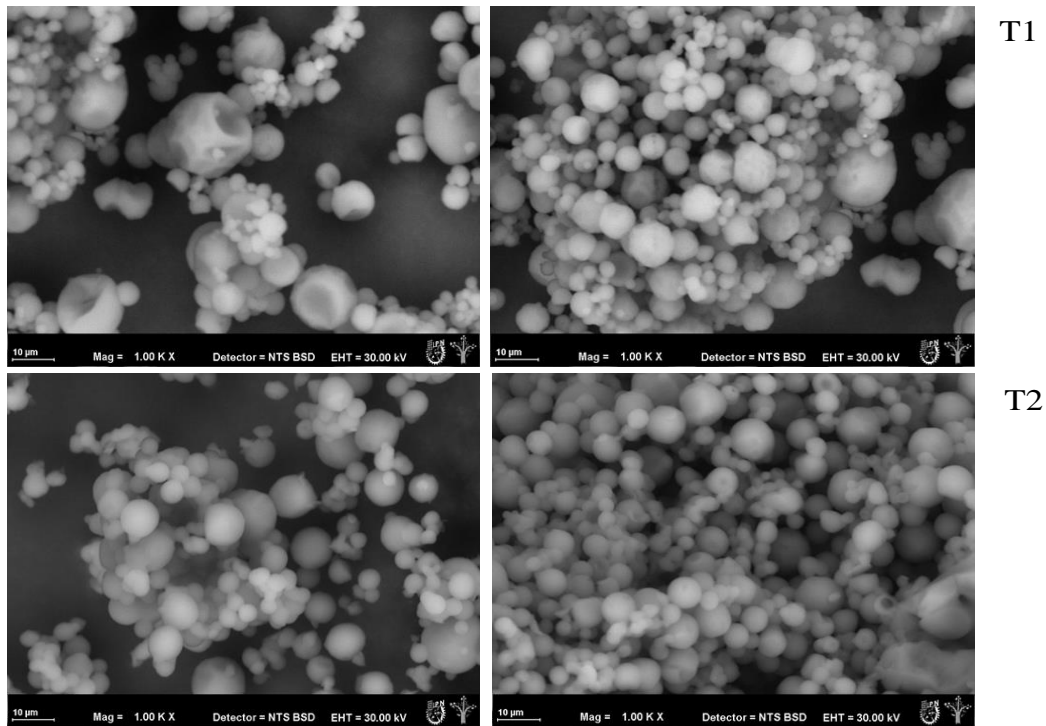


Figura 4. 8 Micrografías proporción °Bx-MD 1:4 polvos del jugo (bebida) de *C. betacea* atomizados. (T1=150 °C) y (T2=160 °C)

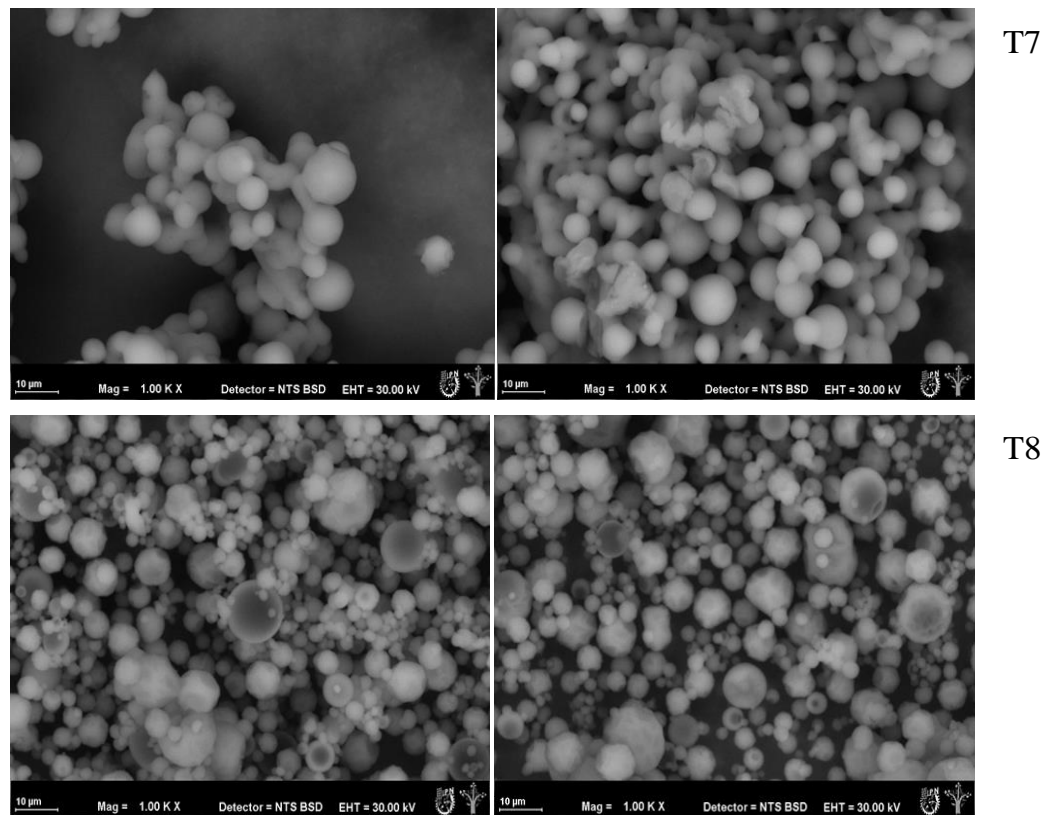


Figura 4. 9 Micrografías proporción °Bx-MD 1:3 polvos del jugo (bebida) de *C. betacea* atomizados. (T7=150 °C) y (T8=160 °C)

4.3.8 *Análisis sensorial del polvo (microcápsulas) de bebidas reconstituidas del jugo de C. betacea*

El análisis sensorial de la escala hedónica de 9 puntos realizado por los miembros del panel no entrenado, mostró una aceptabilidad general de 7 para las bebidas reconstituidas de las proporciones de °Bx-MD de: 1:4 y 1:3 lo que significa que gustó moderadamente, como se observa en la Tabla 4.12 y no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$). De forma similar, los parámetros como la apariencia, textura, sabor y el aroma también gustaron moderadamente. Sin embargo, ambas proporciones mostraron el mismo valor hedónico casi 8 para el gusto. Por lo que pudiera ser factible en cuanto a costos de producción, la elección de la bebida reconstituida.

Tabla 4. 12 Análisis sensorial de las bebidas reconstituidas de *C. betacea*, usando escala hedónica de 9 puntos.

Tratamiento	Apariencia	Textura	Sabor	Aroma	A.	Gral.
AA1:4	7.96±.89 ^a	7.96±1.21 ^a	7.13±1.97 ^a	7.16±1.44 ^a	7.83±.95 ^a	
BB1:3	7.93±1.04 ^a	7.96±.99 ^a	7.23±1.59 ^a	6.76±1.56 ^a	7.66±.84 ^a	

^a Las medias que comparten letra en la misma columna, no muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

Los compuestos bioactivos identificados en *C. betacea*, nos permitieron generar un alimento funcional, debido a la presencia de fitoquímicos, fibra soluble, actividad prebiótica, vitaminas y minerales, además se demostró que es un buen sustrato para las bacterias probióticas. La fibra dietaria total, reportada en esta investigación contribuye en los efectos fisiológicos y bioquímicos por sus propiedades de hidratación, estas estructuras químicas como hidratos de carbono están disponibles como sustratos para la fermentación por la microbiota intestinal, por lo tanto, las harinas de pulpa y cáscara estimularon el crecimiento de *L. Plantarum*, *L. casei* y *L. paracasei*. *C. betacea*. Además de que los extractos de pulpa, evidenciaron su potencial de actividad antioxidante, asociado a la presencia de los compuestos fenólicos totales, frente al control del ácido ascórbico.

Por otro lado, la bebida desarrollada en polvo a base de tamarillo y la adición de bacterias ácido lácticas, mostró a través de la interacción de los componentes nutrucionales del fruto y la maltodextrina, así como las temperaturas de entrada y salida, estabilidad y viabilidad durante el almacenamiento de las microcápsulas, generando un alimento simbiótico entre la fibra soluble (prebiótico) con los probióticos, permitiendo la liberación controlada de los componentes bioactivos y el incremento en su biodisponibilidad por parte del organismo.

Article

Exploration of the Potential Bioactive Molecules of Tamarillo (*CyphoMandra betacea*): Antioxidant Properties and Prebiotic Index

Verónica Reyes-García ¹, Alfonso Totosaus ² , Lourdes Pérez-Chabela ³, Zaida Nelly Juárez ⁴, Gabriel Abraham Cardoso-Ugarte ⁵  and Beatriz Pérez-Armendáriz ^{1,*} 

¹ [Biotechnology Faculty, Biological Sciences Deanery](#), Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 21 sur 1103 Barrio de Santiago, Puebla 72410, Mexico; veronica.reyes02@upaep.edu.mx

² [Food Science Lab and Pilot Plant](#), Tecnológico Nacional de México/ITESM Ecatepec, Ecatepec 55210, Mexico; atosaus@tese.edu.mx

³ [Biotechnology Department](#), Universidad Autónoma Metropolitana, Delegación Iztapalapa 09340, Mexico; lpch@xanum.uam.mx

⁴ [Chemistry Area, Department of Biological Sciences](#), Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 21 sur 1103 Barrio de Santiago, Puebla 72410, Mexico; zaidanellyjuarez@upaep.mx



UNIVERSIDAD CATÓLICA SAN ANTONIO

*La Rectora Magnífica
de la Universidad Católica San Antonio*

Considerando que, conforme a las disposiciones y circunstancias previstas por la legislación vigente,

Doña Verónica Reyes García

con PASAPORTE núm. G29475249

ha superado en julio de 2018, los estudios conducentes al Título Propio de

DIPLOMA UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA

*al haber acreditado los requisitos exigidos en el correspondiente programa académico
compuesto por 4 créditos ECTS.*

Murcia, a 12 de julio de 2018.

BIBLIOGRAFIA

- Acosta-Quezada, P. G., Raigón, M. D., Riofrío-Cuenca, T., García-Martínez, M. D., Plazas, M., Burneo, J. I., Figueroa, J. G., Vilanova, S., & Prohens, J. (2015). Diversity for chemical composition in a collection of different varietal types of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an Andean exotic fruit. *Food Chemistry*, *169*, 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.152>
- Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J., Jiménez-Aparicio, A., & Gutiérrez-López, G. F. (2005). Description of morphological changes of particles long spray drying. *Journal of Food Engineering*, *67*, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.063>
- Alfaro Galarza, O. (2019). *Microencapsulación de Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei mediante secado por aspersión*.
- Alfaro-Galarza, O., López-Villegas, E. O., Rivero-Perez, N., Tapia-Maruri, D., Jiménez-Aparicio, A. R., Palma-Rodríguez, H. M., & Vargas-Torres, A. (2020). Protective effects of the use of taro and rice starch as wall material on the viability of encapsulated *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*. *LWT*, *117*, 108686. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108686>
- Alvarez, J. A. revelo M., Elizabeth Yolanda Perez Alarcon, Maria Veronica Maila. (s/f). *Manual Guia de Capacitacion del Cultivo Ecologico de Tomate de Arbol en Ecuador*. INIAP Archivo Historico.
- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, *18*(5), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>
- Ananta, E., Volkert, M., & Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, *15*(4), 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.004>

- Antunes, A. E. C., Liserre, A. M., Coelho, A. L. A., Menezes, C. R., Moreno, I., Yotsuyanagi, K., & Azambuja, N. C. (2013). Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. *LWT - Food Science and Technology*, *54*(1), 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.018>
- Arokiyaraj, S., Sripriya, N., Bhagya, R., Radhika, B., Prameela, L., & Udayaprakash, N. (2012). Phytochemical screening, antibacterial and free radical scavenging effects of *Artemisia nilagirica*, *Mimosa pudica* and *Clerodendrum siphonanthus* – An in-vitro study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(2, Supplement), S601–S604. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60281-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60281-0)
- Arranz, S., Saura-Calixto, F., Shaha, S., & Kroon, P. A. (2009). High Contents of Nonextractable Polyphenols in Fruits Suggest That Polyphenol Contents of Plant Foods Have Been Underestimated. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7298–7303. <https://doi.org/10.1021/jf9016652>
- Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jiménez, M. T., San Martín-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrate Polymers*, *102*, 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.033>
- Azevedo, R., Filho, J., Pereira, S., Cardoso, L., Andrade, D., & Vidal Junior, M. (2016). Dietary mannan oligosaccharide and *Bacillus subtilis* in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, *38*, 347. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i4.31360>
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Johnston, M. R., Cooper, P. D., & Petrovsky, N. (2012). Analysis of the hydrolysis of inulin using real time ¹H NMR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, *352*, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.03.001>
- Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., & Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, *44*(4), 383–392. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182017000400383>

- Berthomieu, C., & Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis Research*, *101*(2–3), 157–170. <https://doi.org/10.1007/s11120-009-9439-x>
- B.o, S. (1987). Soluble vs insoluble fiber: Different physiological responses. *Food Technology*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Soluble+vs+insoluble+fiber%3A+different+physiological+responses.&author=Schneeman+B.O.&publication_year=1987
- Bogue, J., Collins, O., & Troy, A. (2017). *Market analysis and concept development of functional foods* (pp. 29–45). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802780-6.00002-X>
- Bohs, L. (1995). Transfer of *Cyphomandra* (Solanaceae) and Its Species to *Solanum*. *Taxon*, *44*. <https://doi.org/10.2307/1223500>
- Boyes, S., & Strübi, P. (1997). Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* (Cav.)). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *25*(1), 79–83. <https://doi.org/10.1080/01140671.1997.9513990>
- 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)
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P., Barbosa, S., Fonseca, K., & Silva, F. (2011). Influence of microstructure on the hygroscopic behaviour of mango powdered obtained by spray drying. *African Journal of Food Science*, *5*, 148-155. - *Buscar con Google*. (s/f). Recuperado el 28 de marzo de 2022
- Caparino, O. A., Tang, J., Nindo, C. I., Sablani, S. S., Powers, J. R., & Fellman, J. K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine ‘Carabao’ var.) powder. *Journal of Food Engineering*, *111*(1), 135–148. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>
- Castro-López, L., Ortega-Regules, A., & Lozada-Ramírez, J. D. (2015). *Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos*.

- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & Villarán, M. del C. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, *142*(1–2), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022>
- Chong, P. H., Yusof, Y. A., Aziz, M. G., Nazli, N. Mohd., 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. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.006>
- Chung, W. S. F., Meijerink, M., Zeuner, B., Holck, J., Louis, P., Meyer, A. S., Wells, J. M., Flint, H. J., & Duncan, S. H. (2017). Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon. *FEMS Microbiology Ecology*, *93*(11), Article 11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix127>
- CONABIO-SNIB-Version-202103.pdf*. (s/f). Recuperado el 28 de marzo de 2022, de <https://www.snib.mx/ejemplares/docs/CONABIO-SNIB-Version-202103.pdf>
- Contreras-Rodriguez, O., Mata, F., Verdejo-Román, J., Ramírez-Bernabé, R., Moreno, D., Vilar-Lopez, R., Soriano-Mas, C., & Verdejo-García, A. (2020). Neural-based valuation of functional foods among lean and obese individuals. *Nutrition Research (New York, N.Y.)*, *78*, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.03.006>
- Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., Lombó, F., Mateos-Aparicio, I., Plou, F. J., Ruas-Madiedo, P., Rúperez, P., Redondo-Cuenca, A., Sanz, M. L., & Clemente, A. (2015). [Prebiotics: Concept, properties and beneficial effects]. *Nutricion Hospitalaria*, *31 Suppl 1*, 99–118. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8715>
- Dahl, W. J., & Stewart, M. L. (2015). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *115*(11), 1861–1870. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.09.003>

- de Boer, A., Urlings, M., & Bast, A. (2016). Active ingredients leading in health claims on functional foods. *Journal of Functional Foods*, 20, 587–593. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.025>
- de Rosso, V. V., & Mercadante, A. Z. (2007). HPLC-PDA-MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 9135–9141. <https://doi.org/10.1021/jf071316u>
- Defelice, S. L. (2000). Foundation for Innovation in Medicine Rationale and Proposed Guidelines for the Nutraceutical Research and Education Act. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*, 2(1), 43–52. https://doi.org/10.1300/J133v02n01_05
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Di Cagno, R., & Coda, R. (2014). Fermented Foods: Fermented Vegetable Products. En *Encyclopedia of Food Microbiology* (Vol. 1, pp. 875–883). Elsevier Academic Press.
- Diana, C. R., Humberto, H. S., & Jorge, Y. F. (2015). Probiotic Properties of *Leuconostoc mesenteroides* Isolated from Aguamiel of *Agave salmiana*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 107–117. <https://doi.org/10.1007/s12602-015-9187-5>
- Diaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, A. E., & de Lourdes Pérez-Chabela, M. (2013). In vitro evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: Cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(7), 1460–1467. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12113>
- Diep, T. T., Rush, E. C., & Yoo, M. J. Y. (2020). Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.): A Review of Physicochemical and Bioactive Properties and Potential Applications. *Food Reviews International*, 0(0), 1–25. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1804931>

- Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterology Clinics*, *46*(1), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007>
- Diya, S., Rouf, A., Jan, T., & Sharma, P. (2018). Non-Dairy Probiotics – An Emerging Trend in Health Care Products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2018.710.015>
- do Nascimento, G. E., Hamm, L. A., Baggio, C. H., Werner, M. F. de P., Iacomini, M., & Cordeiro, L. M. C. (2013). Structure of a galactoarabinoglucuronoxylan from tamarillo (*Solanum betaceum*), a tropical exotic fruit, and its biological activity. *Food Chemistry*, *141*(1), 510–516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.023>
- do Nascimento, G. E., Iacomini, M., & Cordeiro, L. M. C. (2016). A comparative study of mucilage and pulp polysaccharides from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *104*, 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.055>
- Domínguez, X. A., & Alcorn, J. B. (1985). Screening of medicinal plants used by huastec mayans of northeastern mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, *13*(2), 139–156. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(85\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0378-8741(85)90002-9)
- Dubois, M., Guilles, K. A., Halmiton, J. K., Rebers, P. A., Smith, P., 1956. Colorimetric methods for determinations of sugar and related substances. *Anal. Chem.* *28*, 350-356.
- Duque, D. B., & Morales, M. P. (2005). *El aroma frutal de Colombia*. Univ. Nacional de Colombia.
- Espin, S., Gonzalez-Manzano, S., Taco, V., Poveda, C., Ayuda-Durán, B., Gonzalez-Paramas, A. M., & Santos-Buelga, C. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chemistry*, *194*, 1073–1080. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.131>
- Farag, M. A., Abdelwareth, A., Sallam, I. E., el Shorbagi, M., Jehmlich, N., Fritz-Wallace, K., Serena Schäpe, S., Rolle-Kampczyk, U., Ehrlich, A., Wessjohann, L. A., & von Bergen, M. (2020). Metabolomics reveals impact of seven functional foods on metabolic pathways in a

gut microbiota model. *Journal of Advanced Research*, 23, 47–59.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.01.001>

Fernandez, L. C. (s/f). *Revisión: Microencapsulación de Alimentos Food Microencapsulation: A Review*. Recuperado el 29 de marzo de 2022, de https://www.academia.edu/37816073/Revisi%C3%B3n_Microencapsulaci%C3%B3n_de_Alimentos_Food_Microencapsulation_A_Review

Field, L. D., Sternhell, S., & Kalman, J. R. (2008). *Organic structures from spectra* (4th ed). John Wiley and Sons Ltd.

Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., & Rodrigues, S. (2012). Optimization of the Fermentation of Cantaloupe Juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2819–2826. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0600-0>

Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27–35.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>

Galan, J. A. (s/f). *Química de los alimentos (salvador badui dergal)*. Recuperado el 28 de marzo de 2022, de https://www.academia.edu/36557736/Quimica_de_los_alimentos_salvador_badui_dergal

Gannasin, S. P., Adzahan, N. M., Hamzah, M. Y., Mustafa, S., & Muhammad, K. (2015). Physicochemical properties of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) hydrocolloid fractions. *Food Chemistry*, 182, 292–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.010>

Gannasin, S. P., Mustafa, S., Adzahan, N. Mohd., & Muhammad, K. (2015). In vitro prebiotic activities of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) hydrocolloids. *Journal of Functional Foods*, 19, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.004>

Gorinstein, S., Poovarodom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Vearasilp, S., Haruenkit, R., Ruamsuke, P., Katrich, E., & Tashma, Z. (2011). Antioxidant properties and

- bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits: In vitro and in vivo studies. *Food Research International*, 44(7), 2222–2232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.009>
- Grumezescu, A., & Holban, A. M. (2019). *Nutrients in Beverages: Volume 12: The Science of Beverages*. Academic Press.
- Haghshenas, B., Abdullah, N., Nami, Y., Radiah, D., Rosli, R., & Yari, A. (2015). Microencapsulation of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 15HN using alginate-*psyllium-fenugreek* polymeric blends. *Journal of Applied Microbiology*, 118. <https://doi.org/10.1111/jam.12762>
- Hernandez, A. G. (DRT). (2010). *Tratado de nutricion / Nutrition Treatise: Composicion Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos / Composition and Nutritional Quality of Foods*. Ed. Médica Panamericana.
- Hernández-Carranza, P., López-Malo, A., & Jiménez-Munguía, M.-T. (2014). Microencapsulation quality and efficiency of *Lactobacillus casei* by spray drying using maltodextrin and vegetable extracts. *Journal of Food Research*, 3(1), 61.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Holst, B., & Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: From bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current opinion in biotechnology*, 19(2), 73–82.
- Hurtado, N. H., Morales, A. L., González-Miret, M. L., Escudero-Gilete, M. L., & Heredia, F. J. (2009). Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chemistry*, 117(1), 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.081>

- Ilha, E. C., da Silva, T., Lorenz, J. G., de Oliveira Rocha, G., & Sant'Anna, E. S. (2015). Lactobacillus paracasei isolated from grape sourdough: Acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying with skim milk and cheese whey. *European Food Research and Technology*, 240(5), 977–984. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2402-x>
- Ishiguro, E., Haskey, N., & Campbell, K. (2018). *Gut microbiota: Interactive effects on nutrition and health*. Academic Press.
- Jaime, L., Mollá, E., Fernández, A., Martín-Cabrejas, M. A., López-Andréu, F. J., & Esteban, R. M. (2002). Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 122–128. <https://doi.org/10.1021/jf010797t>
- Jakobek, L., García-Villalba, R., & Tomás-Barberán, F. A. (2013). Polyphenolic characterisation of old local apple varieties from Southeastern European region. *Journal of Food Composition and Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.012>
- Jimenez, M., Flores, E., Pascual-Pineda, L., & Beristain, C. (2015). Effect of water activity on the stability of Lactobacillus paracasei capsules. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.050>
- Juárez-Trujillo, N., Jiménez-Fernández, M., Franco-Robles, E., Beristain-Guevara, C. I., Chacón-López, M. A., & Ortiz-Basurto, R. I. (2021). Effect of three-stage encapsulation on survival of emulsified Bifidobacterium animalis subsp. Lactis during processing, storage and simulated gastrointestinal tests. *LWT*, 137, 110468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110468>
- Kaijanen, L., Paakkunainen, M., Pietarinen, S., Jernström, E., & Reinikainen, S.-P. (2015). Ultraviolet Detection of Monosaccharides: Multiple Wavelength Strategy to Evaluate Results after Capillary Zone Electrophoretic Separation. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 10, 12.

- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V., & Bae, H. (2015). Significance of Antioxidant Potential of Plants and its Relevance to Therapeutic Applications. *International Journal of Biological Sciences*, *11*(8), 982–991. <https://doi.org/10.7150/ijbs.12096>
- Kou, M.-C., Yen, J.-H., Hong, J.-T., Wang, C.-L., Lin, C.-W., & Wu, M.-J. (2009). Cyphomandra betacea Sendt. Phenolics protect LDL from oxidation and PC12 cells from oxidative stress. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(2), 458–463. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.010>
- Karunakaran, C., Rajkumar, R. and Balamurugan, M. 2018. Principles of nuclear magnetic resonance and pulsed nuclear magnetic resonance. VHNSN College (Autonomous), Virudhunagar.1-47.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, *14*, 737–743. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.01.004>
- Lee, G., & Han, S. (2018). The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/nu10111614>
- Lewandowski, M., Żurawicz, E., & Pruski, K. (2015). Effects of the growing season extension on Polish primocane-fruiting raspberry cultivars. *Horticultural Science*, *42* (2015)(No. 4), 203–208. <https://doi.org/10.17221/306/2014-HORTSCI>
- Li, H., Li, Y., Zhang, T., Liu, T., Yang, J., Luo, X., Li, H., Xue, C., & Yu, J. (2021). Co-encapsulation of Lactobacillus paracasei with lactitol in caseinate gelation cross-linked by Zea mays transglutaminase. *LWT*, *147*, 111535. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111535>
- Li, Y., Zhang, J.-J., Xu, D.-P., Zhou, T., Zhou, Y., Li, S., & Li, H.-B. (2016a). Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International journal of molecular sciences*, *17*(8), 1258.
- Li, Y., Zhang, J.-J., Xu, D.-P., Zhou, T., Zhou, Y., Li, S., & Li, H.-B. (2016b). Bioactivities and Health Benefits of Wild Fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(8), 1258. <https://doi.org/10.3390/ijms17081258>

- Lister, C. E., Morrison, S. C., Kerkhofs, N. S., & Wright, K. M. (2005). The nutritional composition and health benefits of New Zealand tamarillos. *Crop & Food Research Confidential Report*, 1281, 29.
- Liu, X., Wang, S., Chang, S., Chen, W., & Si, M. (2013). Effect of brief mindfulness intervention on tolerance and distress of pain induced by cold-pressor task. *Stress and Health: Journal of the International Society for the Investigation of Stress*, 29(3), 199–204. <https://doi.org/10.1002/smi.2446>
- Lucas, J., Ralaivao, M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2020). A new approach for the microencapsulation of curcumin by a spray drying method, in order to value food products. *Powder Technology*, 362, 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.11.095>
- Marti del Moral, A. et al. 2003. *Microbiota—Buscar con Google*. (s/f). Recuperado el 28 de marzo de 2022
- Martin, D., Lopes, T., Correia, S., Canhoto, J., Marques, M. P. M., & de Carvalho, L. A. B. (2021). Nutraceutical properties of tamarillo fruits: A vibrational study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 252, 119501.
- Martin, M. J., Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. (2013). Effect of unmodified starch on viability of alginate-encapsulated *Lactobacillus fermentum* CECT5716. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.019>
- Martínez, M. L., Curti, M. I., Rocchia, P., Llabot, J. M., Penci, M. C., Bodoira, R. M., & Ribotta, P. D. (2015). Oxidative stability of walnut (*Juglans regia* L.) and chia (*Salvia hispanica* L.) oils microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*, 270, 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.10.031>
- Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Vanzela, E. S. L., Stringheta, P. C., Pinto, C. L. de O., & Martins, J. M. (2013). Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*, 2(51), 764–770. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.047>

- McCleary, B. V., DeVries, J. W., Rader, J. I., Cohen, G., Prosky, L., Mugford, D. C., Champ, M., & Okuma, K. (2010). Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, *93*(1), 221–233.
- Mertz, C., Gancel, A.-L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., Perez, A. M., Ruales, J., & Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of food composition and analysis*, *22*(5), 381–387.
- Morillas-Ruiz, J. M., & Delgado-Alarcón, J. M. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, *32*(2), 8–20. <https://medes.com/publication/75308>
- Morton, J. F. (2013). *Fruits of Warm Climates*. Echo Point Books & Media.
- Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R. M., & Martín-Belloso, O. (2012). Microbiological shelf life and sensory evaluation of fruit juices treated by high-intensity pulsed electric fields and antimicrobials. *Food and Bioprocess Processing*, *90*(2), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.03.004>
- Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *61*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044>
- Muñoz Jáuregui, A. M., Ramos-Escudero, F., Alvarado-Ortiz Ureta, C., Castañeda Castañeda, B., & Lizaraso Caparó, F. (2009). Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) cultivadas en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *75*(4), 431–438.
- Mutalib, M. A., Rahmat, A., Ali, F., Othman, F., & Ramasamy, R. (2017a). Nutritional Compositions and Antiproliferative Activities of Different Solvent Fractions from Ethanol

- Extract of *Cyphomandra betacea* (Tamarillo) Fruit. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 24(5), 19–32. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.3>
- Mutalib, M. A., Rahmat, A., Ali, F., Othman, F., & Ramasamy, R. (2017b). Nutritional Compositions and Antiproliferative Activities of Different Solvent Fractions from Ethanol Extract of *Cyphomandra betacea* (Tamarillo) Fruit. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 24(5), 19–32. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.3>
- Norkaew, O., Thitisut, P., Mahatheeranont, S., Pawin, B., Sookwong, P., Yodpitak, S., & Lungkaphin, A. (2019). Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. *Food Chemistry*, 294, 493–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.086>
- Novik, G., & Savich, V. (2020). Beneficial microbiota. Probiotics and pharmaceutical products in functional nutrition and medicine. *Microbes and Infection*, 22(1), 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.004>
- Oliveira, M. A. de, Maciel de Souza, V., Morato Bergamini, A. M., & De Martinis, E. C. P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22(8), 1400–1403. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.020>
- Olveira, G., & González-Molero, I. (2016). An update on probiotics, prebiotics and symbiotics in clinical nutrition. *Endocrinología Y Nutrición: Organo De La Sociedad Espanola De Endocrinología Y Nutrición*, 63(9), 482–494. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.07.006>
- Ordóñez, R. M., Cardozo, M. L., Zampini, I. C., & Isla, M. I. (2010). Evaluation of Antioxidant Activity and Genotoxicity of Alcoholic and Aqueous Beverages and Pomace Derived from Ripe Fruits of *Cyphomandra betacea* Sendt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 331–337. <https://doi.org/10.1021/jf9024932>
- Ordóñez, R. M., Vattuone, M. A., & Isla, M. I. (2005). *Changes in carbohydrate content and enzymes related activity during Cyphomandra betacea Sendt. Fruit maturation.* <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.09.006>

- Orqueda, M. E., Rivas, M., Zampini, I. C., Alberto, M. R., Torres, S., Cuello, S., Sayago, J., Thomas-Valdes, S., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G., & Isla, M. I. (2017). Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilito (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress. *Food Chemistry*, *216*, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.015>
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, *272*, 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(12), 7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Panisello, J. (2015). *Probióticos y prebióticos en Pediatría (2.ª parte)*. 12.
- Peluso, I., & Palmery, M. (2015). Flavonoids at the pharma-nutrition interface: Is a therapeutic index in demand? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *71*, 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.02.028>
- Perez, R., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, *13*(Suppl 1), S3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2015). Challenges for the Production of Probiotic Fruit Juices. *Beverages*, *1*(2), 95–103. <https://doi.org/10.3390/beverages1020095>
- Picot, A., & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Dairy Journal*, *14*(6), 505–515. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.10.008>

- Prohens, J., & Nuez, F. (2001). The Tamarillo (*Cyphomandra betacea*). *Small Fruits Review*, 1(2), 43–68. https://doi.org/10.1300/J301v01n02_06
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89.
- Rajam, R., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2, Part 1), 773–780. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.062>
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436, 332–347. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.004>
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018a). 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. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.12.018>
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018b). 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. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.12.018>
- Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., & Adams, M. C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>
- Reis, J. M. C. D., Pinheiro, M. F., Oti, A. T., Feitosa-Junior, D. J. S., Pantoja, M. de S., & Barros, R. S. M. (2016). TECHNOLOGICAL INFORMATION REGARDING PREBIOTICS AND PROBIOTICS NUTRITION VERSUS THE PATENT REGISTERS: WHAT IS

- NEW? *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva: ABCD = Brazilian Archives of Digestive Surgery*, 29(4), 279–281. <https://doi.org/10.1590/0102-6720201600040016>
- Reyes-García, V., Totosaus, A., Pérez-Chabela, L., Juárez, Z. N., Cardoso-Ugarte, G. A., & Pérez-Armendáriz, B. (2021). Exploration of the Potential Bioactive Molecules of Tamarillo (*Cyphomandra betacea*): Antioxidant Properties and Prebiotic Index. *Applied Sciences*, 11(23), 11322. <https://doi.org/10.3390/app112311322>
- Rezende, Y., Nogueira, J., & Narain, N. (2018). Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
- Russo, P., de Chiara, M. L. V., Vernile, A., Amodio, M. L., Arena, M. P., Capozzi, V., Massa, S., & Spano, G. (2014). Fresh-Cut Pineapple as a New Carrier of Probiotic Lactic Acid Bacteria. *BioMed Research International*, 2014, e309183. <https://doi.org/10.1155/2014/309183>
- Sagar, V. R., & Suresh Kumar, P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 15–26. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0010-8>
- Saikia, S., Kumar Mahnot, N., Lata Mahanta, C., Chattopadhyay, P., & Agnihotri, A. (2020). Optimisation of a carambola pomace fibre fortified mix fruit beverage powder, its characterization and in vivo study. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.006>
- Salazar-Lugo, R., Barahona, A., Ortiz, K., Chtivez, C., Freire, P., Mndez, J., Bermeo, B., Santamaria, M., Salas, H., & Oleas Mariana, null. (2016). Effect of consumption of tree

- tomato juice (*Cyphomandra betacea*) on lipid profile and glucose concentrations in adults with hyperlipidemia, Ecuador. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, 66(2), 121–128.
- Salinas, J., Peñarrieta, M., Mollinedo, P., & Vila, J. (2011). IDENTIFICACIÓN DE UN FRUCTUOOLIGOSACARIDO EN LA ESPECIE *SMALLANTHUS SONCHIFOLIA*. *Revista Boliviana de Química*, 28(2), 119–123.
- Santos, S. S., Rodrigues, L. M., Costa, S. C., & Madrona, G. S. (2019). Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. *Food Packaging and Shelf Life*, 20, 100177. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.001>
- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 43–49. <https://doi.org/10.1021/jf1036596>
- Serrano, M., & López, M. (2006). *Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal*. 4, 12.
- Shah, D., Shah, Y., & Pradhan, R. (1997). Development and Evaluation of Controlled-Release Diltiazem HCl Microparticles Using Cross-Linked Poly(Vinyl Alcohol). *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(6), 567–574. <https://doi.org/10.3109/03639049709149821>
- Shahidi, F., & Alasalvar, C. (2016). *Handbook of functional beverages and human health* (Vol. 11). CRC Press.
- Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 279–284. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.007>
- Shori, A. B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.001>

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Spectral Analysis. (2004). En *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications* (pp. 45–70). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470011149.ch3>
- Torres, A. (2012). Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa madura de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) (Cav.) Sendtn. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62, 381–388.
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
- Vasco, C., Avila, J., Ruales, J., Svanberg, U., & Kamal-Eldin, A. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup7), 278–288. <https://doi.org/10.1080/09637480903099618>
- Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., & Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT - Food Science and Technology*, 40(4), 722–729. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.02.028>
- Verónica, F., Andrea, Q., Jorge, R., & Suárez, V. (2016). Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains: A study in vitro of heat stress influence. *Food Microbiology*, 54, 154–161.
- Vieira da Silva, B., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 144–158. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.007>

- Vijaya Kumar, B., Vijayendra, S. V. N., & Reddy, O. V. S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products—A review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6112–6124. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1795-2>
- Wang, J., Tang, H., Zhang, C., Zhao, Y., Derrien, M., Rocher, E., van-Hylckama, J., Strissel, K., Zhao, L., Obin, M., & Shen, J. (2015). Modulation of gut microbiota during probiotic-mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet-fed mice. *The ISME Journal*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.99>
- Wang, S., Xiao, Y., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). Rational use of prebiotics for gut microbiota alterations: Specific bacterial phylotypes and related mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 66, 103838. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103838>
- Wei, L., Tan, W., Zhang, J., Mi, Y., Dong, F., Li, Q., & Guo, Z. (2019). Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Schiff Bases of Inulin Bearing Pyridine ring. *Polymers*, 11(2), 371. <https://doi.org/10.3390/polym11020371>
- Westenbrink, S., Brunt, K., & van der Kamp, J.-W. (2013). Dietary fibre: Challenges in production and use of food composition data. *Food Chemistry*, 140(3), 562–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.029>
- WGO. (2017). Probióticos y prebióticos. *Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología*, 35.
- Yahia, E. M. (2009). The Contribution of Fruit and Vegetable Consumption to Human Health. En *Fruit and Vegetable Phytochemicals* (pp. 3–51). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780813809397.ch1>
- Yaich, H., Garna, H., Bchir, B., Besbes, S., Paquot, M., Richel, A., Blecker, C., & Attia, H. (2015). Chemical composition and functional properties of dietary fibre extracted by Englyst and Prosky methods from the alga *Ulva lactuca* collected in Tunisia. *Algal Research*, 9, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.017>

- Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025>
- Younesi, E., & Ayseli, M. T. (2015). An integrated systems-based model for substantiation of health claims in functional food development. *Trends in food science and technology*, 41(Nr.1), 95–100.
- Yu, Z., Zhang, X., Li, S., Li, C., Li, D., & Yang, Z. (2013). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(3), 489–498. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1202-3>
- Zhang, J., Wen, C., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. (2020). *Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review.* <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/6767367>
- Zhang, M., Zhang, Y., Wu, B., Peng, Y., Simair, A. A., Siegel, G. W., Lu, C., & Chen, T. (2020). Intein-mediated recombinant expression of monomeric B22Asp desB30 insulin. *BMC Biotechnology*, 20(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-0598-3>
- Zierler-Brown, S. (2007). Nutraceuticals: A Guide for Healthcare Professionals. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 71(5), 99. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2064899/>

++