



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

Desarrollo de perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina con potencial relajante para una bebida tipo “Bubba Cold Brew” a base de pulpa de café (*Coffea arabica* L.)

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta

I.I.A. Grecia Lizbeth Ramírez

Dirigido por:

Dra. Rocio Campos Vega

Querétaro, Qro a octubre de 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Desarrollo de perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina con potencial relajante para una bebida tipo “Bubba Cold Brew” a base de pulpa de café (*Coffea arabica* L.)

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta

I.I.A. Grecia Lizbeth Ramírez

Dirigido por:

Dra. Rocio Campos Vega

Dra. Rocio Campos Vega

Presidente

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Secretario

Dr. Manuel Miranda Anaya

Vocal

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Suplente

Dra. Sofía María Arvizu Medrano

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro. México.

Octubre 2026

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized cursive letters, likely representing the author's name.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
I INTRODUCCIÓN.....	10
II ANTECEDENTES	12
II.1 Alteraciones del sueño.....	12
II.1.1 Estrés	13
II.2 Alimentos funcionales y nutraceuticos	14
II.2.1 Tendencias en bebidas funcionales	16
II.2.1.1 Bebida tipo “Cold Brew” de café	17
II.2.1.2 Bebida “Bubble tea”	18
II.3 Compuestos bioactivos como ingredientes para el disminuir la ansiedad y favorecer la relajación	18
II.3.1 L-teanina	19
II.4 Café.....	21
II.4.1 Proceso para la obtención de café	21
II.4.2 Subproductos del café	23
II.4.2.1 Pulpa de café	23
II.4.2.1.1 Composición química de la pulpa de café.....	23
II.4.2.1.2 Composición nutraceutica de la pulpa de café	24

II.5 Plátano.....	26
II.5.1 Cáscara de plátano	26
II.5.1.1 Composición química de la cáscara de plátano	27
II.5.1.2 Composición nutracéutica de la cáscara de plátano	28
II.6 Compuestos bioactivos en pulpa de café y cáscara de plátano como ingredientes para el desarrollo de bebidas funcionales	29
II.6.1 Bioactividad en la pulpa de café.....	29
II.6.2 Bioactividad en la cáscara de plátano	31
II.6.2.1 Efectos sobre la regulación del sueño	32
II.6.2.1.1 Fito-melatonina.....	32
II.6.2.1.1.1 Estabilidad molecular	34
II.6.2.1.2 5-Hidroxitriptófano	35
II.6.2.1.3 Catecolaminas.....	36
II.6.2.2 Peces cebrá como modelo en análisis ansiolíticos	37
III OBJETIVOS.....	39
III.1 General.....	39
III.2 Particulares.....	39
IV METODOLOGÍA.....	40
IV.1 Materiales	40
IV.2 Métodos.....	40
IV.2.1 Obtención de harina de cáscara de plátano	40
IV.2.2 Elaboración de perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y L- teanina	41
IV.2.3 Análisis de perfil de textura de las perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y LTH.....	41

IV.2.4 Caracterización química	42
IV.2.4.1 Determinación de humedad	42
IV.2.4.2 Determinación de proteína	42
IV.2.4.3 Determinación de lípidos	43
IV.2.4.4 Determinación de cenizas	44
IV.2.4.5 Determinación de carbohidratos	44
IV.2.4.6 Determinación de fibra total dietaria	44
IV.2.4.6.1 Fibra dietaria insoluble (FDI)	44
IV.2.4.6.2 Fibra dietaria soluble (FDS)	45
IV.2.4.7 Azúcares reductores	45
IV.2.5 Caracterización nutracéutica	46
IV.2.5.1 Extracto etanólico	46
IV.2.5.2 Cuantificación de fenoles totales	46
IV.2.5.3 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	47
IV.2.5.4 Cuantificación de flavonoides totales	47
IV.2.5.5 Cuantificación de melanoidinas	48
IV.2.5.6 Contenido de fito-melatonina	48
IV.2.5.6.1 Extracción de fito-melatonina	48
IV.2.5.6.2 Cuantificación de fito-melatonina	48
IV.2.5.7 Cuantificación de L-teanina	48
IV.2.6 Capacidad antioxidante	49
IV.2.6.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH	49
IV.2.6.2 Capacidad antioxidante por el método ORAC	49
IV.2.6.3 Capacidad antioxidante por el método QUENCHER DPPH	50
IV.2.7 Determinación de las características físicas y químicas de las bebidas (Sólidos Disueltos Totales, sólidos solubles y pH)	50
IV.2.8 Análisis microbiológico	51
IV.2.9 Evaluación sensorial	52
IV.2.9.1 Reclutamiento de participantes	52
IV.2.9.2 Criterios de inclusión	52

IV.2.9.3 Criterios de exclusión	53
IV.2.9.4 Criterios de eliminación	53
IV.2.9.5 Aclaraciones	53
IV.2.9.6 Diseño del estudio	54
IV.2.9.7 Tratamientos	55
IV.2.9.8 Formatos del análisis sensorial	55
IV.2.10 Estudio de efecto relajante en pez cebra adulto	56
IV.2.10.1 Selección de peces cebra	56
IV.2.10.2 Protocolo de experimentación	56
IV.2.10.3 Prueba de luz y oscuridad (LDT)	57
IV.2.10.4 Prueba de buceo en tanque (NTT)	58
IV.2.10.5 Eutanasia, recolección de muestras y manejo de RPBI	58
V ANÁLISIS ESTADÍSTICO	60
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
VI.1 Análisis de textura de las perlas	61
VI.2 Caracterización química	63
VI.3 Caracterización nutraceutica	65
VI.3.1 Compuestos bioactivos por HPLC-DAD	68
VI.4 Capacidad antioxidante	72
VI.4.1 Correlación entre capacidad antioxidante y compuestos fenólicos	73
VI.5 Caracterización física y química	83
VI.6 Evaluación sensorial	85
VI.7 Pruebas ansiolíticas en peces cebra	87
VI.7.1 Prueba de luz/oscuridad	88

VI.7.2 Prueba de Novel Tank.....	93
VII CONCLUSIONES	99
VIII REFERENCIAS	100
IX ANEXOS	114
Anexo 1. Invitación de reclutamiento	114
Anexo 2. Formato de consentimiento informado	115
Anexo 3. Carta de revocación de consentimiento.....	120
Anexo 4. Cuestionario de salud previo.....	120

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
Cuadro 1	Definiciones de alimentos nutraceuticos y alimentos funcionales	15
Cuadro 2	Composición química de la pulpa de café	24
Cuadro 3	Contenido de aminoácidos (mg/g) esenciales en extracto y pulpa de café	24
Cuadro 4	Contenido de los principales compuestos bioactivos en la pulpa de café	25
Cuadro 5	Composición nutricional por 100 g de cáscara de plátano (<i>Musa</i> spp.)	27
Cuadro 6	Composición de minerales por 100 g de cáscara de plátano (<i>Musa</i> spp.)	28
Cuadro 7	Compuestos fenólicos en cáscara de plátano	29
Cuadro 8	Concentraciones mínimas requeridas para inhibición y como bactericida de la pulpa de café (mg/mL)	30
Cuadro 9	Análisis de textura de las PCL y COM antes y después de ser hidratadas.	62
Cuadro 10	Caracterización química de la harina de cáscara de plátano, PCL y COM (%).	64
Cuadro 11	Compuestos bioactivos detectados por HPLC-DAD (µg/g).	69
Cuadro 12	Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de la HCP	75
Cuadro 13	Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de la bebida Cold Brew	78
Cuadro 14	Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de las PCL	81
Cuadro 15	Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de la HCP	82

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
Figura 1	Estructura de L-Teanina, Glutamato y Glutamina	20
Figura 2	Mecanismo de acción de la L-teanina	20
Figura 3	Etapas del desarrollo de los frutos de café	22
Figura 4	Composición de la cereza de café	22
Figura 5	Escala de Von Loesecke para medir la maduración del plátano	26
Figura 6	Molécula de melatonina/Fito-melatonina	32
Figura 7	Biosíntesis de la melatonina	33
Figura 8	Degradación de la melatonina a diferentes pH	34
Figura 9	Degradación de la melatonina a diferentes temperaturas	35
Figura 10	Moléculas de dopamina y serotonina	36
Figura 11	Composición nutracéutica de la HCP, Cold Brew, PCL y COM	67
Figura 12	Capacidad antioxidante de la HCP, Cold Brew, PCL y COM	73
Figura 13	Caracterización fisicoquímica de las bebidas	84
Figura 14	Muestras de perlas de tapioca utilizadas en la evaluación sensorial	85
Figura 15	Respuestas de escala hedónica de 9 puntos	86
Figura 16	Respuestas de prueba de preferencia entre muestras	87
Figura 17	Comportamiento exploratorio y preferencia luz/oscuridad de los peces	90
Figura 18	Episodios de congelación de los peces en la prueba de luz/oscuridad	92
Figura 19	Comportamiento exploratorio y preferencia en la prueba Novel Tank	94
Figura 20	Episodios de congelación de los peces en la prueba de Novel Tank	97

RESUMEN

La aumento de trastornos del sueño ha impulsado la búsqueda de compuestos bioactivos relajantes como la fitomelatonina (en la cáscara de plátano) y la L-teanina (LTH, presente en el té verde). Como objetivo de esta investigación fue desarrollar perlas de tapioca adicionadas con cáscara de plátano y LTH (PCL) adicionadas a una bebida *Cold Brew* (CB) a base de pulpa de café y evaluar su potencial relajante. Se realizó un análisis de textura con perlas comerciales (COM) y se determinó la composición química y nutracéutica de la cáscara, PCL, COM y el CB mediante espectrofotometría (fenoles, flavonoides, melanoidinas), fluorescencia (fitomelatonina) y HPLC-DAD (compuestos fenólicos) y capacidad antioxidante (DPPH, ORAC, QUENCHER). Se midieron parámetros fisicoquímicos al CB, CB+PCL y CB+COM (sólidos disueltos, °Brix, pH, acidez). La aceptabilidad se evaluó sensorialmente (PCL, COM y PCL con jarabe), y el efecto relajante en un modelo de pez cebra (luz/oscuridad y Novel Tank). Los resultados mostraron que la cáscara presentó los mayores contenidos de fenoles (15.53 mg/g) y fitomelatonina (28.24 mg/g). La LTH en PCL se degradó un ~58% tras del proceso térmico, por lo que una porción de 18 g de PCL aporta 16.58 mg de fitomelatonina y 85 mg de LTH. En DPPH las PCL superaron a COM por su contenido fenólico y melanoidinas ($r > 0.90$); en ORAC y QUENCHER los resultados fueron similares, atribuible a las melanoidinas de COM ($r > 0.93$). Sensorialmente, las tres muestras fueron aceptadas (6-8 puntos); las PCL con jarabe destacaron en sabor (9-15% superior) y preferencia (69%), sin diferencias significativas entre PCL y COM. Finalmente, en el modelo animal, LTH y melatonina estabilizaron transiciones en luz/oscuridad y promovieron exploración vertical en Novel Tank; sugiriendo reducción del miedo instintivo y estado de calma. Estos hallazgos respaldan a las PCL como producto nutracéutico con potencial relajante en una bebida funcional, sin comprometer la preferencia del consumidor.

Palabras clave: Perlas de tapioca, cáscara de plátano, L-teanina, Cold Brew, relajación.

ABSTRACT

The rise in sleep disorders has driven the research for relaxing bioactive compounds such as phytomelatonin (found in banana peel) and LTHanine (LTH, in green tea). The objective of this research was to develop tapioca pearls enriched with banana peel and LTH (PCL) for a Cold Brew (CB) type beverage made from coffee pulp, to assess their relaxing potential. A texture profile analysis was performed using commercial pearls (COM), and the chemical and nutraceutical composition of the peel, PCL, COM, and CB was determined using spectrophotometry (phenols, flavonoids, melanoidins), fluorescence (phytomelatonin), and HPLC-DAD (phenolic compounds), as well as antioxidant capacity (DPPH, ORAC, QUENCHER). Physicochemical parameters were measured in CB, CB+PCL, and CB+COM (dissolved solids, °Brix, pH, acidity). Acceptability was evaluated sensorially (PCL, COM, and PCL with syrup), and the relaxing effect was assessed in a zebrafish model (light/dark and Novel Tank). The results showed that banana peel had the highest contents of phenols (15.53 mg/g) and phytomelatonin (28.24 mg/g). LTH in PCL degraded by ~58% after the thermal process, so an 18 g portion of PCL provides 16.58 mg of phytomelatonin and 85 mg of LTH. In DPPH test PCL showed a higher antioxidant capacity than COM, primarily driven by its phenol and melanoidin content ($r>0.90$); while ORAC and QUENCHER results were similar, due to melanoidins from COM ($r>0.93$). In sensory evaluation, all three samples were accepted (6-8 points). PCL with syrup scored higher in taste (9-15% superior) and in preference (69%), with no significant differences between PCL and COM. Finally, in the animal model, LTH and melatonin stabilized light/dark transitions and promoted vertical exploration in the Novel Tank, suggesting a reduction in instinctive fear and a state of calm. These findings support PCL as a nutraceutical product with relaxing potential in a functional beverage, without compromising consumer preference.

Key words: Tapioca pearls, banana peel, L-theanine, Cold Brew, relaxation.

I INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha visto un creciente interés en el consumo de bebidas nutraceúticas y funcionales por los beneficios que estas ofrecen a la salud debido a alguno o varios compuestos bioactivos provenientes de una planta, microorganismo o animal. Debido a que, el consumidor además de buscar un buen sabor, textura y apariencia opta por bebidas que tengan un valor añadido como el ayudar a mantener o mejorar el estado de salud y/o reducir el riesgo de padecer alguna enfermedad; es decir, una funcionalidad específica para su salud. En particular las bebidas a base de plantas han abundado en el mercado en los últimos años, incluyendo aquellas que promueven la relajación y mejoran la calidad del sueño a partir de tipos funcionales de plantas. Ya que, en el 2022 el mercado global de las bebidas a base de plantas generó ingresos de alrededor de 27.90 mil millones de dólares y se estima que el crecimiento siga y alcance los 73.19 mil millones de dólares para el 2032, con una tasa de crecimiento anual compuesta del 10.12 % (Prabhu *et al.*, 2024). Por lo que, el crecimiento continuo de este mercado le ofrece al consumidor una diversidad más amplia de opciones de bebidas con beneficios a la salud, a partir de plantas.

El consumo de bebidas tipo “Bubble tea” se ha fortalecido al comercializarse alrededor del mundo. Esta bebida tiene una gran variedad de sabores e ingredientes. Sin embargo, la característica principal de esta bebida son las “perlas” o “bubbas”, compuestas de tapioca, el almidón del tubérculo de la yuca (*Manihot esculenta*). La versatilidad de este tubérculo es amplia, dado que la harina y el almidón de la yuca pueden utilizarse para la producción de geles, snacks, frituras y panificación. Por lo que el aprovechamiento de la tapioca para hacer las bubas le da características organolépticas aceptables para el consumidor (Bulathgama *et al.*, 2020).

Por su lado, la cáscara del plátano (*Musa spp.*) es el principal subproducto del fruto que se puede utilizar de distintas maneras al representar alrededor del 40% del fruto completo. Esta es una fuente rica en hidratos de carbono (~68 %), fibra dietética (47-53 %) y fenoles totales (9-30 mg/g) (Wani & Dhanya *et al.*, 2025). La cáscara de plátano al ser rica en diversos compuestos bioactivos le confieren distintas propiedades y efectos sobre la regulación del sueño. Como es el caso de la fito-melatonina, la melatonina

proveniente de las plantas, la cual funciona como hormona reguladora del ciclo circadiano y precursor del sueño, así como se ha visto tener efectos en la regulación de los desórdenes del sueño. Moreno (2024) determinó que por cada gramo de cáscara de plátano hay 10.62 mg de fito-melatonina y se recomienda una dosis de entre 1 y 10 mg de melatonina al día a adultos mayores de 18 años (Cardinali, 2023).

Del mismo modo, la L-teanina (LTH) es un aminoácido que ayuda en la promoción del sueño, así como en la disminución del estrés. Se ha determinado que una dosis de 200 mg de LTH es suficiente para presentar efectos en la relajación, combatir la ansiedad y el sueño intermitente durante la noche, sin embargo, se han visto estos efectos en dosis desde 50 mg, dependiendo del estilo de vida de la persona (Tominaga *et al.*, 2022).

La pulpa de café, como la cáscara de plátano, es un subproducto del fruto o la cereza del café, y conforma alrededor del 40 % del peso total del fruto (Machado *et al.*, 2023). La pulpa de café es rica en fenoles (23.3 mg/g de muestra), dándole características nutraceuticas. Rosales (2023) evaluó que la bebida tipo “Cold Brew” a base de pulpa de café y café de desmanche tiene efectos positivos sobre las emociones al disminuir la tristeza, la ansiedad y hostilidad, después de 2 horas de su ingesta.

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo desarrollar perlas de tapioca con cáscara de plátano y LTH (PCL) en una bebida tipo “Cold Brew” a base de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) con el fin de tener una bebida con potencial funcional en la promoción y la calidad del sueño y en la mejora del estado de ánimo y la relajación. Además de aprovechar los subproductos de la producción del café y los frutos de plátano.

II ANTECEDENTES

II.1 Alteraciones del sueño

El sueño es una función biológica importante para la homeostasis humana, porque permite el restablecimiento de funciones físicas y psicológicas, que son la base de aspectos fisiológicos y comportamentales. Este, está dividido en dos estados: el que se caracteriza por no tener movimientos rápidos de ojos (NREM), dividido a su vez en tres etapas: N1, N2 y N3; y el estado de movimientos rápidos de ojos (REM). Cuando se entra en el estado de sueño NREM, comienzan cambios fisiológicos importantes. Dentro del hipotálamo se encuentran los núcleos supraquiasmáticos (NSQ), quienes se encargan de regular el ciclo circadiano e interactúan directamente con los genes CLOCK. De este modo, se regulan los patrones de sueño ocasionando cambios fisiológicos en los sistemas del cuerpo humano, tales como efectos en el metabolismo, el estado de ánimo y el sistema serotoninérgico. Las alteraciones del sueño son trastornos que afectan la calidad, cantidad y el patrón del sueño en un individuo, lo que puede ocasionar consecuencias en la salud y calidad de vida de la persona que las padece. Se han diagnosticado principalmente cinco categorías de los trastornos del sueño: 1- hipersomnolencia, la complicación de dormir y despertar a la hora deseada por exceso de sueño; 2-insomnio, la imposibilidad de obtener sueño y descanso; 3-desordenes en el ciclo circadiano, la incapacidad de mantener el periodo de sueño deseado; 4-parasomnia, fenómenos indeseables durante el sueño como el sonambulismo o terror nocturno; y 5-alteraciones respiratorios durante el sueño (Wang *et al.*, 2026).

Aunque no hay una razón en específico de por qué se presentan las alteraciones del sueño, muchas de ellas son genéticamente heredadas. Sin embargo, el ambiente social y económico influencia de manera significativa en la aparición de alguna de ellas. En los últimos años, alrededor del mundo, ha habido un aumento en los trastornos del sueño en la población en general, lo que se puede deber a factores internos, tales como el estrés, ansiedad o depresión; o factores externos, como el estilo de vida y las condiciones de sueño (Tominaga *et al.*, 2022).

Los trastornos del sueño se han convertido en un problema global a nivel mundial. En México alrededor del 45 % de los adultos padecen de mala calidad del sueño y más del 40 % de la población presenta algún trastorno del sueño como el insomnio, un fenómeno que puede intensificarse en la próxima década (Latinus, 2026). Por lo tanto, se ha determinado que estos trastornos del sueño son tratables, lo que es sugerido para evitar el riesgo de padecer enfermedades como hipertensión, enfermedades del corazón o afectaciones en la salud mental como depresión, ansiedad o irritabilidad (Secretaría de Salud, 2024).

II.1.1 Estrés

El estrés es un desbalance en la homeostasis corporal, la capacidad del cuerpo humano para mantener un estado de equilibrio a pesar de los cambios en el entorno. Este balance depende de distintos factores que pueden ser influenciados por estresores generados por diversos estímulos ocasionando reacciones emocionales, psicológicas y conductuales que afectan directamente la salud y su entorno más próximo. Según datos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) el 75 % de los mexicanos padecen de estrés laboral, superando a China con 73 % y a Estados Unidos con 59 %. Por lo que México se posiciona en el primer lugar a nivel mundial en estrés laboral. Se estima que 7 de cada 10 mexicanos sufren de efectos de esta condicional debido a la creciente presión en el entorno de cada individuo, afectando de esta manera a la salud física, emocional, psicológica y conductual de quienes padecen de estrés (Forbes, 2023).

Las alteraciones del sueño inducidas por estrés pueden ser activadas por varios sistemas fisiológicos y neuronales, siendo que se caracterizan principalmente por sueños prolongados, despertares intermitentes e irritabilidad emocional. Aproximadamente el 40 % de la población que padece de desórdenes del sueño también presentan trastornos psiquiátricos relacionados al estrés, como el trastorno depresivo mayor (TDM), el trastorno de ansiedad generalizada (TAG) y el trastorno de estrés postraumático (TEPT). Por el contrario, el 60 % de las personas con alguno de los trastornos mencionados ya presentan alguna alteración del sueño desde el diagnóstico inicial. Lo que sugiere que las alteraciones del sueño suelen preceder a los síntomas de las afecciones psiquiátricas relacionadas al estrés (Wang *et al.*, 2026).

II.2 Alimentos funcionales y nutraceuticos

El término “nutracéutico” surgió de “nutrición” y “fármaco” en 1989 por el Dr. Stephen DeFelice, fundador y director de la Fundación de Medicina Innovadora (FIM, por sus siglas en inglés). Este término surgió como un nuevo concepto hacía los alimentos que se desarrollan con la intención de mejorar la salud. Aunque no hay una definición exacta de alimentos o ingredientes nutraceuticos distinta a la otras categorías como los suplementos alimenticios, estos últimos suelen ayudar específicamente en ciertas funciones fisiológicas, como complementos de la dieta diaria. Mientras que los nutraceuticos ayudan en la mejora de la salud y cuentan con beneficios farmacológicos, adicionales al aporte nutrimental; es decir, ayudan en la prevención de enfermedades a partir de su composición química (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024).

Por otro lado, la funcionalidad de los alimentos comenzó a tener importancia a partir de 1991, cuando el gobierno japonés categorizó a los alimentos que contaban con declaraciones de propiedades saludables, nombrándolos FOSHU (Foods for Specific Health Use, por sus siglas en inglés). Los cuales debían de cumplir con tres características principales: 1-efectividad de acuerdo con estudios clínicos, 2-seguridad en estudios clínicos y no clínicos y 3-compuestos activos y efectivos. Por lo tanto, aquellos productos que desearán tener esta denominación debían de contar con evidencia científica que respalde su seguridad y efectividad. Es decir, a diferencia de los alimentos nutraceuticos, los alimentos funcionales deben de cumplir con una dosis que esté clínicamente confirmada como efectiva del o los compuestos comprobados como eficientes en la matriz del alimento, además de ser clínicamente comprobados como seguros y no tóxicos para el consumidor (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024). Sin embargo, no existen un consenso global respecto a la definición de nutraceutico o funcional. Por lo que la definición de cada concepto varía de acuerdo con la institución consultada (**Cuadro 1**).

Finalmente, la demanda de estos alimentos ha incrementado conforme su popularidad ha aumentado, dado que cada vez hay mayor certeza y estandarización en los procedimientos para determinar la funcionalidad de un alimento. estimando que para el 2026 el mercado de alimentos nutraceuticos alcance los 441 billones de dólares, con

una tasa de crecimiento anual del 7.8 % (Streker et al., 2025). Por lo tanto, el creciente mercado de los suplementos alimenticios y de los nutraceuticos dirige a que el desarrollo de estos esté sustentado con evidencia científica. Es decir, se debe de conocer la biodisponibilidad, bioaccesibilidad y transformación química de las estructuras moleculares de las que se están atribuyendo dichos beneficios, para poder respaldarlos (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024).

Cuadro 1. Definiciones de alimentos nutraceuticos y alimentos funcionales.

Alimentos nutraceuticos	Alimentos funcionales
a) La Autoridad Europea de la Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) define a los alimentos nutraceuticos como alimentos o ingredientes alimenticios con beneficios específicos a la salud (Streker et al., 2025).	El Centro de los Alimentos Funcionales de EUA los define como “alimentos naturales o procesados que contienen compuestos biológicamente activos, que, en cantidades definidas, efectivas y no toxicas brindan beneficios a la salud de manera comprobada clínicamente” (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024).
b) Según el Diccionario Merriam-Webster se define a los nutraceuticos como “alimentos fortificados o suplementos dietéticos que tienen valor a la salud además de tener valor nutricional” (Streker et al., 2025).	La Organización de Alimentos y Agricultura de Estados Unidos define a los alimentos funcionales como “alimentos que contienen otros compuestos beneficios a la salud, además de nutrientes. Demostrando beneficios específicos sobre la salud, incluyendo la prevención o el tratamiento de enfermedades” (Temple, 2022).
c) De acuerdo con la Ley de Salud y Educación sobre Suplementos Dietéticos los nutraceuticos son	La comisión europea de la Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE, por sus siglas en inglés) los

“suplementos dietéticos que cuentan con nutrientes concentrados y/o alimentos con ingredientes activos naturales que promueven la salud” (Streker et al., 2025).	define como alimentos con beneficios a la salud, pero que no sean pastillas ni cápsulas, sino más bien como parte de una dieta normal (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024).
d) La Asociación Europea de Nutracéuticos (ENA, por sus siglas en inglés) los define como “productos dietéticos que tienen efectos médicos o a la salud que pueden usarse, además de otros productos, para la prevención y terapia de enfermedades” (Streker et al., 2025).	El Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar de Japón define como alimentos funcionales (FOSHU) “aquellos que contengan ingredientes funcionales para la salud y que han sido aprobados oficialmente para ello y para que obtengan dicha categoría deben de haber demostrado su eficacia, seguridad y no toxicidad” (Virgen-Carrillo & Mojica, 2024).

II.2.1 Tendencias en bebidas funcionales

En los últimos años la tendencia por bebidas funcionales, es decir, que tengan un beneficio a la salud además de la nutrición, ha ido incrementando, por lo que esta industria ha ido creciendo. Según la definición de una bebida funcional de Prabhu *et al.* (2024) es cualquier bebida no alcohólica que tenga beneficios a la salud debido a la adición de algún compuesto bioactivo proveniente de una planta, animal o microorganismo con algún beneficio para la salud. Esto le da a la industria un abanico amplio de sectores a los cuales enfocarse, sin dejar de considerar la sustentabilidad y/o el aprovechamiento de subproductos. Lo que da margen de poder utilizar una gran variedad de compuestos e ingredientes bioactivos que ayuden en la formulación de las bebidas. Por lo que, es de importancia tomar en cuenta el proceso de producción, almacenamiento y características sensoriales y organolépticas de los productos que se están desarrollando.

Actualmente, el consumidor opta por bebidas que además del buen sabor y la apariencia del producto, tengan una funcionalidad. La cual se puede conseguir a través de la utilización de moléculas bioactivas, como vitaminas, minerales, antioxidantes o probióticos; y el uso de procesos sustentables o innovadores. Por ejemplo, dentro de las “bebidas para atletas” se incluyen las bebidas energizantes, aguas fortificadas con minerales o vitaminas, y los licuados proteicos. Así como las bebidas a base de fuentes vegetales con o sin cafeína, como los téis o cafés y aquellas que buscan elaborarse a base de legumbres y cereales con el fin de obtener un mayor aporte proteico (Prabhu *et al.*, 2024).

II.2.1.1 Bebida tipo “Cold Brew” de café

El café es una de las bebidas más populares en el mundo por su sabor tan característico, el cual se debe a dos principales compuestos, los volátiles y los no volátiles. Los primeros son los responsables del aroma a café, mientras que a los segundos se les atribuye el amargor, astringencia y acidez de la bebida. La temperatura de extracción es el parámetro que principalmente afecta estas variables por los compuestos químicos que se liberan. El “Cold Brew” o infusión en frío de café es una extracción sólido-líquida en donde parámetros de proceso, como la temperatura y el tiempo de extracción influyen a que la bebida tenga notas dulces, frutales y florales, con baja acidez. Es decir, que dependiendo del tipo de extracción y la calidad de este es la cantidad de compuestos que quedan disueltos o suspendidos en el extracto producido, atribuyendo a aroma, sabor y perfil general de la bebida en cuestión. Este tipo de infusión se puede hacer a 20-25 °C, o menos, mediante extracción en agua por un tiempo de 8-24 horas; o bien, por inmersión en frío, donde el café permanece en bolsas de filtración de 12 a 24 horas en un sistema estático. Este tipo de extracción de café hace que se le dé un perfil en aromas y sabores diferentes, desde dulces y achocolatados, hasta ácidos o más cremosos; dependiendo de la variedad de café y de las condiciones de tiempo-temperatura de extracción (Yang *et al.*, 2024).

II.2.1.2 Bebida “Bubble tea”

La bebida tipo “Bubble tea”, o también conocida como “Boba tea” se originó en la década de 1980 en las teterías tradicionales de Taiwán, mezclando té con azúcar y leche con perlas de tapioca. El consumo del “Bubble tea” alrededor del mundo ha ido incrementando a lo largo de los años, conforme el paso de estos, los gustos y la combinación de culturas, se han ido creando bebidas utilizando la idea del “Bubble tea” mezclando otro tipo de sabores o ingredientes a la misma. Dentro de la preparación original de las perlas de boba se elaboran mezclando almidón de tapioca, azúcar y agua, formando pequeñas perlas que se hierven hasta adquirir una textura gomosa y brillante. El almidón de tapioca se obtiene de la yuca o mandioca, que al ser cocinada presenta una textura un tanto grumosa y espesa, mientras que el azúcar moreno, mayormente en formato de jarabe, es el principal responsable del color y sabor caramelo oscuro de las perlas. Una vez que se termina la cocción de las perlas, generalmente se sumergen en el jarabe de azúcar y se le agrega la leche saborizada. En un inicio, las primeras versiones eran con té negro helado y leche. Sin embargo, ahora hay una gran variedad, siendo que se puede preparar en frío, caliente, con o sin leche, con sabores frutales o incluso jugos en lugar de té; pero sin dejar a las bobas que caracterizan a la bebida original (Wei, 2024).

II.3 Compuestos bioactivos como ingredientes para el disminuir la ansiedad y favorecer la relajación

Hay diversos compuestos que ayudan a favorecer la relajación y a disminuir la ansiedad, derivados principalmente de fuentes naturales como plantas, animales o microorganismos. Estos compuestos bioactivos tienen distintos mecanismos de acción, confiriéndoles capacidad de ser utilizados como tratamientos de distintas enfermedades. En el caso de los compuestos fenólicos, metabolitos con un anillo aromático (benzeno) y con uno o más grupos hidroxilo unidos a él, se dividen según el número de anillos y el patrón de sustitución en este. Siendo fenoles simples aquellos que solo cuentan con un anillo aromático, y polifenoles aquellos que tienen más de dos (Nájera-Maldonado *et al.*, 2024).

Dentro de estos últimos se encuentran los flavonoides que además de tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, han mostrado tener potencial dentro de tratamientos en desordenes de ansiedad. Como es el caso del 7,8-dihydroxiflavona, quien ha demostrado aliviar el efecto de ansiedad después de un consumo crónico de alcohol, o la quercetina que ayuda a reducir la ansiedad a través de múltiples mecanismos, como la inhibición de la neuro inflamación previniendo la microglía evitando su transformación de fenotipos como el M1 asociado a la inflamación. Al mismo tiempo, esta ayuda en la homeostasis de la microbiota regulando el metabolismo del cerebro aliviando los síntomas de ansiedad. Por lo que, los compuestos fenólicos han demostrado tener efectos ansiolíticos, al involucrar mecanismos que interactúan en el sistema serotoninérgico, aquel que responde a procesos fisiológicos y conductuales como el estado de ánimo, el apetito, el sueño, entre otros (Yu *et al.*, 2025).

II.3.1 L-teanina

La teanina o L-teanina (LTH) es un aminoácido hidrosoluble no proteinogénico del té verde (*Camellia sinensis*), es decir que no forma parte en la síntesis de proteínas. Este aminoácido se absorbe en el torrente sanguíneo en aproximadamente 40 minutos, influyendo en los niveles de ciertos neurotransmisores, como la dopamina, serotonina, glutamato y glutamina. Por lo que, además de inducir la relajación, reduce el estrés y la ansiedad, al reducir la presión sanguínea y el ritmo cardiaco (Bulman *et al.*, 2025).

Estos efectos se han demostrado con eficacia en una dosis de 200-400 mg de LTH por día. No obstante, una dosis de 50 a 100 mg/día, aunque no muestra los mismos efectos, los tiene en la fase 2 del sueño (no REM) (Tominaga *et al.*, 2022). Lo mismo se comprobó en un estudio realizado por Wang *et al.* (2022) en donde se suministraron 400 mg de LTH por 11 semanas a estudiantes universitarios. En este estudio se vio una disminución en el estrés en los individuos al analizar la actividad de amilasa salivar, la cual se considera como un índice eficiente para evaluar el nivel de estrés psicológico de la persona. Es importante considerar que los resultados y efectos de la LTH dependen de cada individuo, de sus hábitos y si haya o no consumido cafeína, ya que esta puede inhibirse en cierta medida por los efectos de la cafeína consumida.

La LTH tiene una estructura análoga a la del aminoácido glutamato (Glu) y la glutamina (Gln) (**Figura 1**), por lo que la LTH compite con la Gln y con la neurotransmisión excitatoria del Glu teniendo efectos fisiológicos y funcionando como agente tranquilizante y antiestrés, promoviendo así la relajación y el sueño (Tominaga *et al.*, 2022).

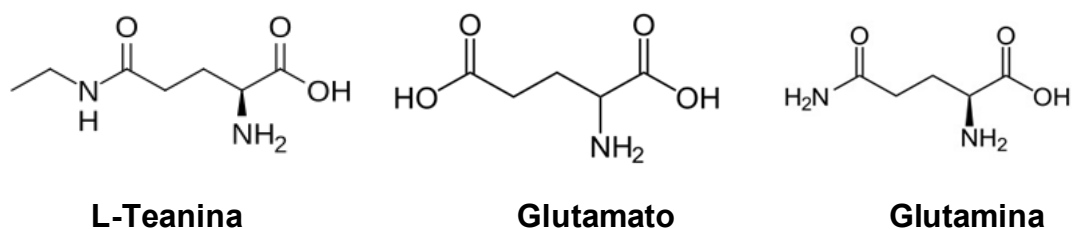


Figura 1. Estructura de L-Teanina, Glutamato y Glutamina (Wang *et al.* 2022)

Es decir, la LTH actúa dando un efecto presináptico (**Figura 2**) gracias a la similitud en las estructuras de la LTH y la Gln. La LTH actúa como antagonista en los sitios de unión de los receptores ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y el kainato (KA) y actúa como agonista del sitio de unión del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). Por lo que al inhibir a los transportadores de Gln, disminuye su conversión a Glu y al reducirse la cantidad de Glu intracelular se conduce a la insuficiencia de neurotransmisores para su liberación ante estímulos (Wang *et al.* 2022).

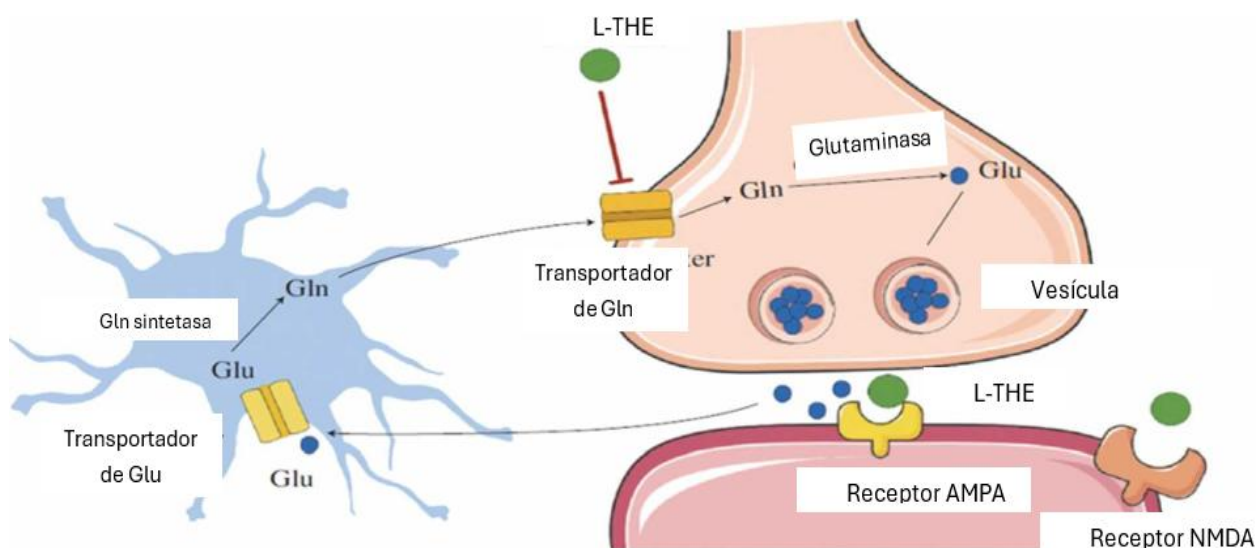


Figura 2. Mecanismo de acción de la L-teanina (Wang *et al.*, 2022)

II.4 Café

El café es una bebida proveniente de árboles del género *Coffea* y es de las más importantes a nivel mundial por ser uno de los cultivos más consumidos. Siendo *Coffea arabica* y *Coffea canephora* las principales especies cultivadas. Su calidad depende de distintos factores como el clima, el tiempo de suelo o la cadena de producción, afectando de manera directa en las características sensoriales, físicas, químicas y económicas del producto. Dado que se evalúan distintos parámetros para determinar la complejidad del café, la cual se debe por su composición, que incluye cafeína, compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, azúcares, aminoácidos y minerales (Freitas *et al.*, 2024). El café producido en México puede clasificarse en distintas categorías, que van desde “Regular”, aquel que es de menor calidad y de producción masiva, hasta “Máxima”, destinado a un mercado más exigente con mayor complejidad en su composición y sabor. Sin embargo, entre estas dos categorías se encuentra el café “Premium”, que cuenta con una selección más minuciosa y el de “Especialidad”, que tiene procesos de elaboración más detallados (Secretaría de Economía, 2022).

II.4.1 Proceso para la obtención de café

La cosecha del café se realiza manualmente con el fin de cosechar de manera adecuada la cereza del café, es decir, el fruto del cafeto, con el grado de madurez requerido. Siendo el color uno de los principales indicadores de madurez, ya que este varía desde el verde, cuando hay una mayor concentración de clorofila, hasta el rojo intenso, cuando hay mayor concentración de antocianinas. Se ha determinado que el desarrollo del fruto ocurre básicamente en tres etapas (**Figura 3**). La primera abarca a desde la floración hasta la semana 8, donde hay un crecimiento lento; la segunda es hasta la semana 26, donde hay un crecimiento más acelerado y un cambio de color más notorio; y la tercer etapa, va desde la semana 27 hasta la 32, en donde el fruto es completamente rojo y tiene la madurez fisiológica necesaria para su cosecha (Unigarro, 2022).

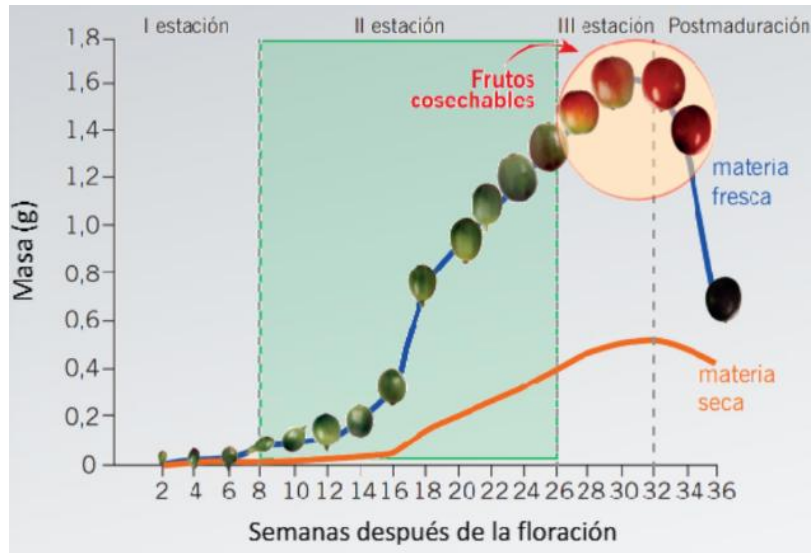


Figura 3. Etapas del desarrollo de los frutos de café (Unigarro, 2022).

Cuando las cerezas de café (**Figura 4**) ya han sido cosechadas se someten a un proceso de despulpe mediante maquinaria especializada, donde se separa la pulpa del grano. Los granos se fermentan cerca de 36 horas para eliminar el mucílago y ser lavados, para poder ser secados entre 3 y 4 días hasta alcanzar alrededor de 13 % de humedad. Dependiendo del tipo de café que se desee obtener son los tiempos de fermentación y secado que se efectúen para influir en las características finales del producto (Secretaría de Economía, 2022).

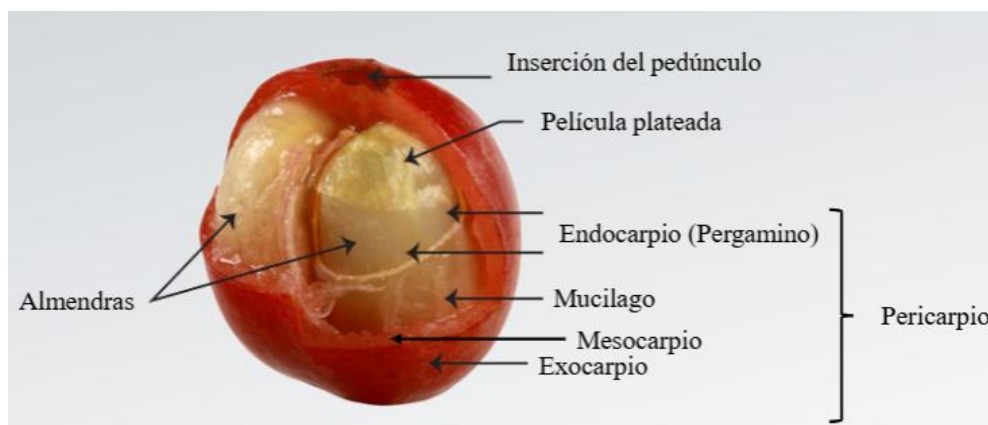


Figura 4. Composición de la cereza de café (Unigarro, 2022).

II.4.2 Subproductos del café

Los subproductos del café han sido utilizados para la elaboración de alimentos y aditivos funcionales, debido a su alto potencial de aprovechamiento por sus compuestos bioactivos y nutrientes con beneficios a la salud. Entre los principales subproductos se encuentran la pulpa o exocarpio, la cáscara, el bagazo o café usado, residuos después de la preparación de la bebida; el café verde, obtenido cuando a las cerezas se les retira la pulpa, el mucílago y el pergamino, pero mantiene la película plateada, y sigue sin tostar; café tostado y el café de desmanche, los granos defectuosos que no son utilizados para la comercialización por su mala calidad. Se ha señalado que la cascarilla, el café usado y el tostado son fuentes ricas en antioxidantes, mientras que el café verde se destaca por su contenido de ácidos clorogénicos. Por lo tanto, estos compuestos bioactivos pueden ser liberados y absorbidos en el proceso de digestión, permitiendo efectos benéficos a la salud (CIAD, 2026).

II.4.2.1 Pulpa de café

La pulpa de café, también conocida como exocarpio, es el principal subproducto del procesamiento de la cereza de café, ya que representa entre el 40 y 50 % del fruto. Este subproducto es rico en compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos, antioxidantes o fibra. Sin embargo, su contenido puede variar mucho dependiendo de la región geográfica en la que se ubique y el método de extracción y secado, siendo el método húmedo el principal método de extracción utilizado (Andrade *et al.*, 2025) y según la Planeación Agrícola Nacional 2017–2030, se estima que para el año 2030 se generarán entre 1,412 y 1,883 mil toneladas de este subproducto (SAGARPA, 2017).

II.4.2.1.1 Composición química de la pulpa de café

Machado *et al.* (2023) ha analizado la composición química del café con el fin de conocer su potencial en la industria alimenticia (**Cuadro 2**). El componente principal de la pulpa son los carbohidratos, de los cuáles la fibra representa alrededor del 46 %.

Cuadro 2. Composición química de la pulpa de café.

Compuesto (%)	Pulpa deshidratada
Carbohidratos	31.23 ± 0.29
Fibra dietaria total	46.12 ± 0.00
Fibra dietaria insoluble	36.99 ± 0.08
Fibra dietaria soluble	9.13 ± 0.07
Proteína	10.23 ± 0.08
Cenizas	10.72 ± 0.21
Grasa	1.70 ± 0.01

(Machado *et al.*, 2023)

La pulpa de café presenta aminoácidos esenciales (**Cuadro 3**) y se ha demostrado que al deshidratarla bajo el sol y hacerla harina se extrae mayor cantidad de aminoácidos, que por una extracción en caliente. De acuerdo con Gil *et al.* (2024), esto se da por la desnaturalización de las proteínas debido al tratamiento térmico.

Cuadro 3. Contenido de aminoácidos (mg/g) esenciales en extracto y harina de pulpa de café.

Aminoácido	Harina de pulpa de café	Extracto de pulpa de café
Leucina	130.0 ± 6.9	24.1 ± 1.3
Fenilalanina	125.3 ± 5.5	40.2 ± 1.0
Valina	115.0 ± 4.7	41.2 ± 0.9
Isoleucina	68.3 ± 3.7	13.3 ± 0.5
Treonina	65.2 ± 3.6	29.9 ± 0.3
Histidina	55.7 ± 1.7	9.8 ± 0.8
Lisina	55.5 ± 1.4	8.3 ± 2.8
Metionina	15.4 ± 0.8	4.1 ± 1.5

(Gil *et al.*, 2024)

II.4.2.1.2 Composición nutracéutica de la pulpa de café

La pulpa de café ha demostrado ser rica en compuestos que son benéficos a la salud, como es el caso de los fenoles totales, flavonoides y ácidos clorogénicos (**Cuadro 4**). Estos compuestos varían dependiendo del método de cuantificación y extracción, por lo que, se puede obtener una variación muy alta, especialmente en compuestos fenólicos

totales, dependiendo de la zona geográfica y la especie con la que se trabaje (Machado *et al.*, 2023).

Cuadro 4. Contenido de los principales compuestos bioactivos en la pulpa de café.

Compuesto	g/100g
Cafeína	0.85 ± 0.02
Compuestos fenólicos ¹	2.37 ± 0.10
Flavonoides totales ²	1.23 ± 0.01
Ácidos clorogénicos	
Ácido 5-cafeoilquínico	220.56 ± 6.99
Ácido 4-cafeoilquínico	14.83 ± 1.05
Ácido 3-cafeoilquínico	6.54 ± 0.14

¹g eq. de ác. clorogénicos/100g de muestra, ²g eq. de catequina/100g de muestra.

(Machado *et al.*, 2023)

Machado *et al.* (2023) informan que la pulpa de café cuenta con menor cantidad de compuestos nutraceuticos que el grano del café, que puede contener hasta tres veces más compuestos fenólicos. Sin embargo, el grano del café cuenta con un tejido de almacenamiento, donde se forman los nutrientes y compuestos fenólicos para el desarrollo y reproducción de la planta. Por lo que, se espera que tenga una mayor cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides en comparación a otras partes del fruto que rodean al grano.

El isómero predominante de los ácidos clorogénicos en la pulpa de café es el 5-cafeoilquínico (5-CQA). Estos ácidos, además del contenido de cafeína, en subproductos varía en gran medida debido a las condiciones post cosecha, grado de madurez y condiciones de suelo. Ya que, se ha demostrado que los efectos del secado por sol, aire caliente, al vacío o liofilización afectan la cantidad de los fenoles y ácidos fenólicos en la pulpa de café. Siendo la exposición al sol el método más agresivo para preservar los compuestos bioactivos en la matriz, principalmente por las altas temperaturas, la exposición al oxígeno y la actividad de las poli peroxidasas (Machado *et al.*, 2023).

II.5 Plátano

El plátano (género *Musa*) es uno de los frutos más cultivados alrededor del mundo, siendo que ocupa el segundo lugar en la producción global después de los cítricos. Se caracteriza por ser una fruta climatérica, es decir, que su maduración continúa después de ser cosechado. Este fruto está disponible durante todo el año y tiene una gama amplia de colores, desde el verde hasta el amarillo e incluso púrpura o rojo. El nivel de madurez del plátano puede ser evaluado con la escala de Von Loesecke (**Figura 5**), que mide el color de la piel del plátano en relación con su madurez; o bien mediante factores fisiológicos como la textura, tamaño, forma, parámetros gravimétricos (humedad y peso) y características químicas como los sólidos solubles, pH y peso en seco (Yasin *et al.*, 2025).



Figura 5. Escala de Von Loesecke para medir la maduración del plátano. Yasin *et al.*, (2025).

Etapa 1 = totalmente verde, Etapa 2 = Verde con partes amarillas, Etapa 3 = Más verde que amarillo, Etapa 4 = Más amarillo que verde, Etapa 5 = Amarillo con puntas verdes, Etapa 6 = Amarillo, Etapa 7 = Amarillo con puntos cafés

II.5.1 Cáscara de plátano

De acuerdo con Yasin *et al.* (2025) el plátano es un cultivo que se cosecha durante todo el año, lo que genera una gran cantidad de desecho, llevando al aprovechamiento de estos en diversas industrias. En este desperdicio agroindustrial se pueden encontrar fuentes valiosas de compuestos bioactivos como polifenoles, fibras, prebióticos o vitaminas. En el plátano el principal subproducto es su cáscara, representando alrededor del 40 % del peso del fruto, la cual se suele utilizar principalmente como fertilizante y como alimento animal por su alto contenido de fibra. A nivel mundial, se producen

alrededor de 114 millones de toneladas de desperdicio de plátano, siendo aproximadamente ~45 millones de toneladas de cáscara de plátano.

La cáscara de plátano gracias a su composición y potencial antioxidante y nutracéutico, incluyendo la cantidad de almidón resistente, fibra dietética y compuestos fenólicos, se puede utilizar de diversas maneras. Esta ha sido utilizada como remedio para diversas afecciones de salud como úlceras, diarrea, inflamación o diabetes (Yasin *et al.*, 2025).

II.5.1.1 Composición química de la cáscara de plátano

La cáscara de plátano es un subproducto valioso al ser rico en nutrientes y minerales. En el **Cuadro 5** se observa que este fruto es una fuente rica en hidratos de carbono, de los cuales entre 47 y 53 % son fibra dietética total; se ha reportado que cerca del 45 % de esta fibra es insoluble, lo cual indica que incluye componentes como la celulosa y lignina, aportando beneficios a la salud digestiva porque incrementa el volumen del bolo fecal, acelera el tránsito intestinal y contribuye a prevenir el estreñimiento. Por otro lado, entre el 5 y el 10 % proviene de fibra soluble, principalmente por pectinas, la cual ayuda a nivelar la glucosa y el colesterol en sangre. Sin embargo, el contenido general de fibra dietaria varían por factores como la variedad, madurez y condiciones de crecimiento del fruto (Wani & Dhanya, 2025).

Cuadro 5. Composición nutricional por 100 g de cáscara de plátano (*Musa spp.*)

Componente	Contenido (g)
Hidratos de carbono	68.31
Fibra dietaria total	47 - 53
Almidón	3.6-6.3
Almidón resistente	2.3-2.5
Proteínas	6-9
Grasas	10.44
Cenizas	9 - 11

(Wani & Dhanya., 2025)

La mayoría de los aminoácidos esenciales están presentes en la cáscara, siendo glicina y ácido aspártico los más abundantes, con 13.02 mg y 9.06 mg por cada 100 g de cáscara, respectivamente (Wani & Dhanya, 2025).

En el **Cuadro 6** se observa la composición de minerales de la cáscara de plátano, siendo el potasio y el fósforo los minerales que predominan. El magnesio está relacionado con la regulación del sueño; su suplementación ayuda en la mejoría de la calidad del sueño, calmar al sistema nervioso central y a reducir los niveles de la hormona cortisol en suero. Aproximadamente, la suplementación de 500 mg de magnesio/día durante 8 semanas ayuda significativamente en el incremento de la duración del sueño (Zhang *et al.*, 2022).

Cuadro 6. Composición de minerales por 100 g de cáscara de plátano (*Musa spp.*)

Mineral	Contenido (mg)
Fósforo	283.1
Potasio	3502.5
Sodio	43.1
Calcio	142.9
Magnesio	138.12

(Yasin *et al.*, 2025)

II.5.1.2 Composición nutracéutica de la cáscara de plátano

Wani & Dhany (2025) reportan que la cáscara de plátano es rica en compuestos fenólicos, como flavonoides, taninos y otros, así como carotenoides, lo que le confieren bioactividad y propiedades nutracéuticas como potencial antioxidante, antimicrobiana y antibacteriana. La cáscara de plátano tiene hasta 47 mg/g de fenoles totales, estos compuestos además de ser funcionales por su actividad antioxidante y antimicrobiana, están asociados con beneficios a la salud, en la prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes y obesidad. En el **Cuadro 7** se muestran los principales compuestos fenólicos de la cáscara de plátano (*Musa spp.*).

Cuadro 7. Compuestos fenólicos en cáscara de plátano.

Compuesto	mg/g
Fenoles totales¹	9.0-30.0
Flavonoides²	0.2-0.6
Catequina	3.95
Galocatequina	1.58
Quercetina	196.0
Ácidos fenólicos	
Ácido ferúlico	0.04-0.85
Ácido gálico	47.0

¹mg equivalentes de ácido gálico/g de peso seco, ²µg β-caroteno/g de peso seco

(Wani & Dhanya, 2025)

Los compuestos fenólicos, al acumularse en los tejidos de la cáscara, en frutas como el plátano, ayudan a proteger a las frutas de los rayos ultravioleta, patógenos e insectos. La galocatequina, un polifenol antioxidante presente en la cáscara del plátano (1.58 mg/g de peso seco), es cinco veces mayor que en la pulpa y proporciona protección contra la oxidación lipídica. Además, los carotenoides y flavonoides aumentan en la cáscara de plátano conforme va cambiando de verde a amarillo, mientras que la clorofila disminuye en un 90% (Hong *et al.*, 2023).

II.6 Compuestos bioactivos en pulpa de café y cáscara de plátano como ingredientes para el desarrollo de bebidas funcionales

II.6.1 Bioactividad en la pulpa de café

Rohaya *et al.* (2023) reportan que la pulpa de café es rica en diversos compuestos fenólicos, lo que le da potencial de bioactividad en la salud humana. El contenido de estos compuestos en su composición le da diversos beneficios en la salud, siendo su actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria los principales. Se han realizado análisis fisicoquímicos de la pulpa de café y se demostró capacidad antioxidante al ser medida por la capacidad de depurar radicales libres por medio de la prueba DPPH y por la capacidad de inhibición de oxidación por el índice de concentración inhibitoria cincuenta (IC₅₀) por µg/mL en el extracto. Este índice representa la concentración del

compuesto requerido para inhibir el 50 % de la oxidación, indicando un valor menor a 50 µg/mL una capacidad antioxidante muy fuerte, entre 50-100 µg/mL una actividad fuerte, entre 101-150 µg/mL media y entre 151-200 µg/mL una actividad débil. En el estudio se demostró que la pulpa de café tenía entre 33.95 y 44.94 ppm de IC₅₀, dependiendo de la especie del café, para Arábica se obtuvo un valor de 44.94 ppm.

Por otro lado, se ha estudiado la actividad antimicrobiana de la pulpa de café en donde se ha demostrado que la pulpa ha tenido actividad inhibitoria contra los microorganismos Gram negativos (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y Gram positivos (*Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*). La inhibición contra las Gram positivas es mayor que contra las Gram negativas, siendo *S. epidermidis* el microorganismo que menor concentración de extracto de pulpa necesita para su inhibición y *P. aeruginosa* el de mayor concentración de pulpa necesaria (Duangjai *et al.*, 2016). En el **Cuadro 8** se muestran las concentraciones mínimas inhibitorias de extracto de pulpa de café.

Cuadro 8. Concentraciones mínimas requeridas para inhibición y como bactericida de la pulpa de café (mg/mL)

Bacteria	MIC	MBC
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4.69	> 300
<i>Staphylococcus aureus</i>	37.5	> 300
<i>Escherichia coli</i>	37.5	> 300
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75.0	> 300

MIC: Concentración Mínima Inhibitoria, MBC: Concentración Mínima Bactericida

(Duangjai *et al.*, 2016)

Hablando de la actividad antiinflamatoria de la pulpa, se ha visto una inhibición de la producción de citoquinas inflamatorias, específicamente IL-6, IL-1β y TNF-α en células RAW264.7 (Ontawong *et al.*, 2023). El extracto de pulpa en concentraciones de entre 100 y 1000 µg/ml disminuyó significativamente la producción de IL-6 y IL-1β, mientras que la dosis entre 10 y 1000 µg/ml disminuyó la producción de TNF-α en células inflamatorias. En este estudio se observó que el contenido propio del ácido clorogénico y cafeína disminuyeron los niveles de las tres citoquinas, IL-6, IL-1β y TNF-α. Estos resultados se compararon con Celecoxib (3.8 µg/ml), medicamento antiinflamatorio no

esteroideo y se determinó que no hubo diferencias en la disminución de estas tres citoquinas. Del mismo modo, la viabilidad de la célula quedó igual que el control al utilizar este medicamento y compuestos bioactivos analizados.

II.6.2 Bioactividad en la cáscara de plátano

Yasin *et al.* (2025) demostraron que los flavonoides, taninos, alcaloides, terpenos y ácidos fenólicos presentes en la cáscara de plátano ayudan a la inhibición del crecimiento bacteriano. Debido a que estos metabolitos impactan en la membrana celular de las bacterias, lo que ocasiona una irregularidad en la forma celular, conduciendo a una muerte celular. Se ha reportado que los taninos por su acción astringente precipitan proteínas afectando al peptidoglicano bacteriano, de tal modo que los extractos de la cáscara tienen cierta inhibición hacia las bacterias Gram negativas (*Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Moraxella catarrhalis*), Gram positivas (*S. aureus* y *Streptococcus pyogenes*).

Del mismo modo, evidenciaron que los alimentos con cierta capacidad antioxidante ayudan a reducir el riesgo de padecer diversas enfermedades como diabetes o cáncer. Los compuestos con actividad antioxidante, como los compuestos fenólicos, le dan a la cáscara de plátano la capacidad de eliminar radicales libres, quienes son responsables de daño celular en distintos órganos y causar diversas enfermedades por estrés oxidativo (Yasin *et al.*, 2025).

Manzoor *et al.* (2004) formularon bagels con lavanda y cáscara de plátano observando que su consumo diario por 3 semanas reduce los niveles de ansiedad en adultos. Los bagels se prepararon sustituyendo el 10 % de la harina de trigo con cáscara de plátano escaldada, secada y triturada. En el 90 % de los sujetos la ansiedad disminuyó significativamente, debido a la dirección que toma el sistema neuroendocrino, ya que los receptores de GABA son dirigidos a abordar el tono simpático del sistema nervioso y otras cascadas de señalización.

II.6.2.1 Efectos sobre la regulación del sueño

II.6.2.1.1 Fito-melatonina

Se refiere a fito-melatonina como la molécula de la melatonina que se encuentra en la plantas. Esta molécula, está involucrada en procesos hormonales, fisiológicos y biológicos, haciéndola indispensable en el sistema de cualquier ser vivo, dado que se ha descubierto que es naturalmente producida a partir del triptófano en células que tienen mitocondria, como plantas, animales y organismos unicelulares. Al ser una molécula pleiotrópica, tiene acciones fisiológicas relevantes como germinación de semillas, crecimiento en las raíces, fotosíntesis, senescencia de las hojas de la planta y de sus frutos. Del mismo modo, esta hormona ayuda en la regulación del estrés abiótico y biótico, relacionados con la situación ambiental y patógenos presentes respectivamente (Aghdam & Arnao, 2024).

Se ha estudiado que hay una mayor concentración de fito-melatonina en plantas aromáticas y medicinales. Siendo las hojas las de mayor concentración en comparación con las semillas o raíces, dejando el siguiente orden: hojas>semillas>raíces>flores>frutos (Arnao & Hernández, 2018). La fito-melatonina tiene la misma molécula que la melatonina (**Figura 6**). Esta molécula, en mamíferos, actúa como regulador del sueño, regulador del estado de ánimo, metabolismo y respuestas inmunológicas. De modo, que se ha utilizado de manera exógena para tratar desordenes del sueño, siendo el más utilizado en personas que sufren de *jet lag*, sueño desfasado debido al cambio de zonas horarias (Karunara *et al.*, 2024).

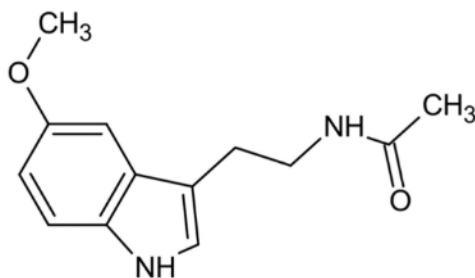


Figura 6. Molécula de melatonina/fito-melatonina (Pranil *et al.*, 2020).

La dosis recomendada de melatonina es de 1-10 mg/día para adultos mayores de 18 años, sin embargo, no se han visto efectos de toxicidad en dosis de 100 mg/día (1-1.5 mg/kg/día). El consumo de melatonina dentro del rango recomendado incrementa la calidad de sueño, disminuye los despertares en la noche y aumenta el tiempo total de sueño (Cardinali, 2023). De acuerdo con el estudio de Moreno (2024) en 1 g de harina de cáscara de plátano hay 10.62 mg de fito-melatonina y Jiménez (2021) menciona que hay 0.2 % g/g de triptófano, precursor de la melatonina.

La melatonina se sintetiza a partir del triptófano en reacciones catalizadas por las enzimas: triptófano 5-hidroxilasa (T5H), aminoácido aromático descarboxilasa (AAAD), arilalquilamina N-acetiltransferasa (AA-NAT) y hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT) (**Figura 7**) (Poza *et al.*, 2022).

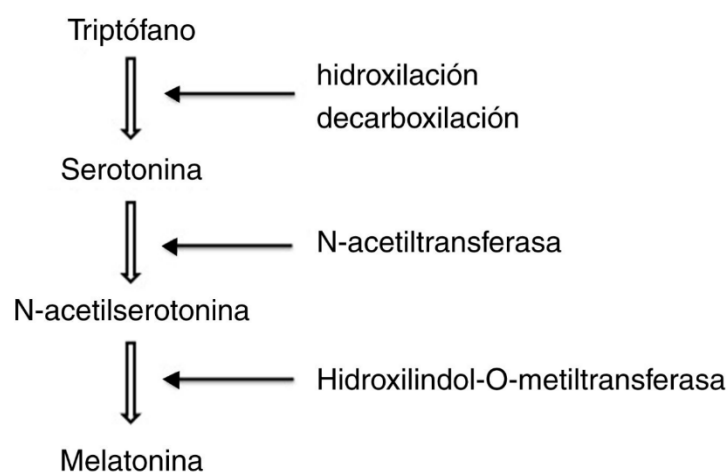


Figura 7. Biosíntesis de la melatonina (Poza *et al.*, 2022).

Debido al contenido de melatonina y triptófano, el consumo de pulpa de plátano en adultos mayores ha demostrado reducir desórdenes del sueño (Panurywanti *et al.*, 2021). Una intervención por Keser *et al.* (2024), a la que se incluyeron 21 pacientes viviendo con insomnio, mostró que el consumo de una colación del fruto del plátano, antes de dormir, mejoraba la calidad de su sueño. Sin embargo, a pesar del contenido de melatonina en la cáscara y los efectos positivos del consumo de plátano sobre la salud del sueño, no se ha evaluado su efectividad en este campo.

II.6.2.1.1.1 Estabilidad molecular

Con respecto a su estabilidad molecular, factores como el pH y la temperatura influyen directamente en su capacidad para mantener su estructura y, por ende, su actividad biológica. Se ha determinado que la molécula de la melatonina es estable a pH bajos, al poder mantenerse estable hasta un 65 % dentro de los primeros 28 días de almacenamiento (**Figura 8**). Sin embargo, se puede observar que en soluciones de 4.0-13.0 de pH hay una degradación mayor de la melatonina (Pranil *et al.*, 2020).

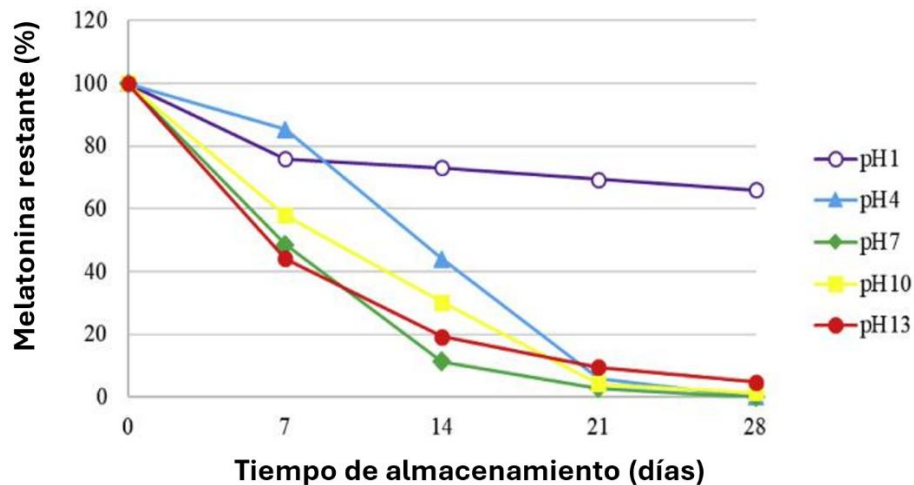


Figura 8. Degradación de la melatonina a diferentes pH (Pranil *et al.*, 2020).

En el estudio de Pranil *et al.* (2020) evaluaron la termo estabilidad de la melatonina a 60, 70, 80 y 90 °C por 12 horas; y aunque en todas las temperaturas hubo una continua degradación de la melatonina, la que tuvo menor degradación fue la de 60 °C (**Figura 9**). Sin embargo, se determinó que, aunque el pH y la temperatura juegan un papel importante, la luz y el aire también. Ya que, el almacenamiento de concentraciones de melatonina a temperatura ambiente (25 °C) y expuestas a luz y aire, se degradaba hasta un 43 %.

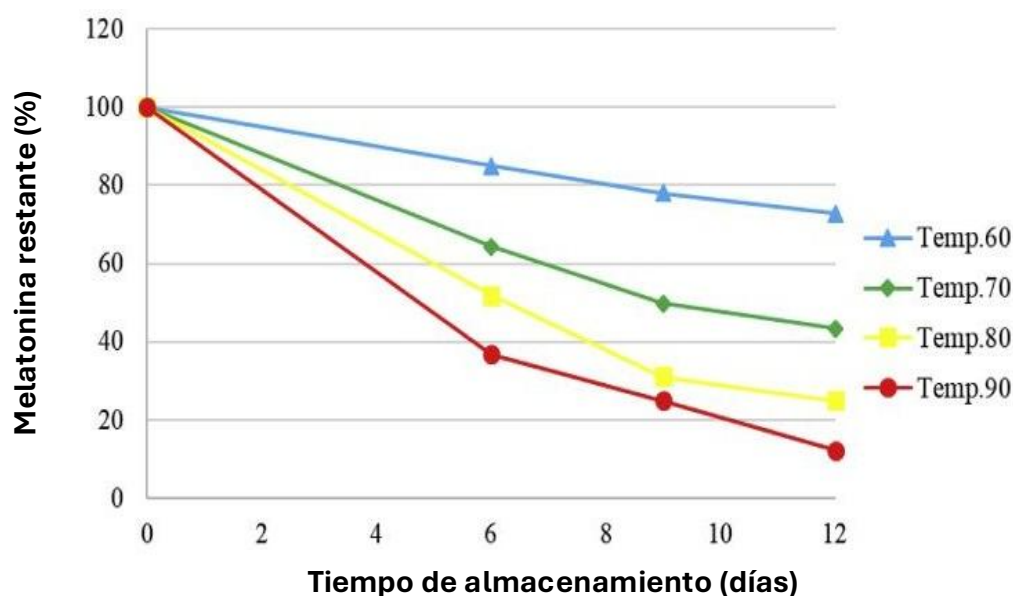


Figura 91. Degradación de la melatonina a diferentes temperaturas (Pranil *et al.*, 2020).

II.6.2.1.2 5-Hidroxitriptófano

El L-5-hidroxitriptófano (5-HTP) es un metabolito secundario en la biosíntesis de la melatonina y es producido a partir del triptófano. Del mismo modo que la fito-melatonina, el 5-HTP no solo se produce en los humanos, sino también en plantas y microorganismos unicelulares; y se puede tomar de manera exógena con el fin de ser un precursor del sueño, regulando neurotransmisores y hormonas (Sutanto *et al.*, 2024). La cáscara de plátano contiene triptófano, 5-HTP y otros nutrientes que participan en el metabolismo de la serotonina dentro del cuerpo humano, lo que aunado a otros componentes como el magnesio y la vitamina B6 podrían favorecer su efecto sobre la calidad del sueño. (Fatchurohmah *et al.*, 2019),

En un estudio realizado por Sutanto *et al.* (2024) una dosis de 100 mg de 5-HTP/día durante 8 semanas incrementa la concentración de serotonina; promoviendo así, la calidad del sueño y la diversidad de la microbiota intestinal. Lo que favoreció también a tener un mejor descanso; ya que, se observó que aquellas personas que padecían de trastornos del sueño tenían una deficiencia en la diversidad de su microbiota intestinal.

II.6.2.1.3 Catecolaminas

Las catecolaminas son un tipo de aminos biogénicas que son producidas por la descarboxilación de aminoácidos o por la aminación de aldehídos y cetonas. Dentro de las principales catecolaminas están la dopamina, la serotonina, epinefrina y norepinefrina; que están presentes de manera natural en distintos alimentos. Estas han demostrado trabajar como neurotransmisores en la regulación hormonal, la dopamina ayuda en la reducción del estrés oxidativo en plasma y el estado de ánimo y la serotonina contribuye en la mejora del estado de ánimo, en el sentimiento de felicidad y bienestar (**Figura 10**) (Jiwan & Tasleem, 2018).

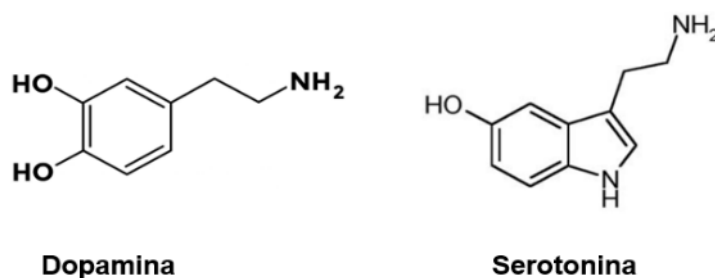


Figura 10. Moléculas de dopamina y serotonina (Borges *et al.*, 2018).

Se ha registrado que la pulpa del plátano tiene entre 8.0 y 20.2 mg de serotonina por cada 100 g del fruto y de 26.5 a 38.1 mg de dopamina por cada 100 g. Mientras que en la cáscara del plátano se ha registrado una mayor cantidad de estas aminos, hasta 104 mg de serotonina/100 g de cáscara y hasta 643 mg de dopamina/100 g. Sin embargo, se ha visto que el contenido de estas aminos disminuye con respecto al tiempo de almacenamiento. En la etapa 5 de Von Loesecke hay una mayor concentración de estas dos hormonas, mientras que en la etapa 7 es cuando comienzan a disminuir debido a la oxidación de los tejidos y a la senescencia de sus biomarcadores. Se ha observado que al hervir el fruto con la cáscara aumenta el contenido de estas aminos en la pulpa, más del 73 % de dopamina y más del 2.3 % para serotonina. Esto, debido a que en el proceso de cocción las aminos migran de la cáscara a la pulpa (Borges *et al.*, 2018).

Meliala *et al.* (2022) al trabajar con animales que padecían de estrés crónico y al suministrarles una dieta con cáscara de plátano, demostró que hubo una relación entre la serotonina proveniente de la cáscara de plátano y los niveles de cortisol en sangre de los animales. Los niveles de ambas moléculas se analizaron en dos etapas: antes de la ingesta de las cáscaras de plátano y después de 4 semanas de la ingesta, donde se observó que hubo cambios en la concentración de serotonina en plasma. Por lo que se asocia que las aminas biogénicas, en conjunto con la fibra dietaria y triptófano de la cáscara de plátano, reducen la depresión inducida por el estrés crónico de los animales.

Por otro lado, hay otro tipo de aminas biogénicas como la putrescina, la espermidina y espermina que están asociadas con la división celular y en el proceso de senescencia del fruto. Se ha demostrado que tanto la espermidina y la espermina disminuyen conforme la madurez de la cáscara de plátano, pero la putrescina aumenta (Borges *et al.*, 2019). Aunque no se han reportado las concentraciones de esas aminas biogénicas en la cáscara de plátano, Tanasa *et al.* (2015) reporta que en la pulpa del fruto presenta hasta 61.5 mg de putrescina/kg y 32.3 mg de cadaverina/kg.

II.6.2.2 Peces cebras como modelo en análisis ansiolíticos

Debido a los mecanismos neuroquímicos y el comportamiento ante estímulos de los peces cebras, se suele emplear en el área de la neurociencia; gracias a que poseen características neuronales similares a los humanos. Dado que cuentan con neurotransmisores similares a los mamíferos, como los sistemas de la dopamina, serotonina, GABA y Glutamato. El genoma del pez cebra comparte un 70 % de similitud con el genoma humano, y más del 84 % de los genes humanos que causan enfermedades tienen equivalentes en el pez cebra. Esto sugiere que los mecanismos biológicos subyacentes pueden ser similares. Lo que lo hace de gran relevancia en el desarrollo de nuevos productos alimenticios, como ingredientes, bebidas y alimentos sólidos, o incluso de fármacos, por sus mecanismos cerebrales y de comportamiento, relevantes en el área de la neurociencia. Por lo tanto, la capacidad del pez cebra para responder a estímulos ambientales y farmacológicos de manera similar a los humanos, junto con su genética conservada, lo convierte en un modelo ideal para evaluar el impacto

de compuestos en el sistema nervioso central y en el comportamiento, como la relajación y ansiedad (Verma *et al.*, 2022).

III OBJETIVOS

III.1 General

Desarrollar perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina para su adición en una bebida Cold Brew a base de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) para evaluar su potencial relajante.

III.2 Particulares

1. Desarrollar perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina y evaluar sus características físicas, químicas y nutraceuticas
2. Evaluar las perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina adicionadas en una bebida tipo Cold Brew a base de pulpa de café mediante una prueba sensorial para conocer su aceptabilidad
3. Analizar los efectos del consumo de la bebida tipo Cold Brew adicionada con las perlas desarrolladas en un modelo de pez cebra para determinar su potencial relajante

IV METODOLOGÍA

IV.1 Materiales

La cáscara de plátano utilizada fue de plátanos de género *Musa* spp., variedad Tabasco y se adquirieron en mercados locales, seleccionando aquellos que correspondan a la etapa 5 de la escala de Von Loescke: amarillos con puntas verdes. Los frutos fueron enjuagados con agua destilada y separada la cáscara de la pulpa manualmente. Posteriormente, las cáscaras se cortaron en cuadrados de 2 x 2 cm aproximadamente para ser sumergidos en una solución de ácido cítrico al 1% (p/p) por 5 minutos antes del deshidratado, para evitar el pardeamiento enzimático (Anchundia *et al.*, 2016).

El almidón de yuca para elaborar las perlas, de especie *Manihot esculenta*, fue obtenido de mercados locales (Ariazu®).

La LTH utilizada fue de la marca comercial Nutricost®.

La bebida “Cold Brew” a base de pulpa de café fue donada por la Finca Xuuka, ubicada en el municipio de Santiago Atitlan, en la región Mixe de la sierra Norte de Oaxaca, México. La bebida fue elaborada bajo un procedimiento estándar de la marca Xuuka®, a base de pulpa de café de granos de café *Coffea arabica* L. Los granos se molieron, para ser macerados por 24 horas a 7 °C. Posteriormente, se filtraron y envasaron para ser mantenidos en refrigeración a 4 °C.

Las perlas comerciales de almidón de tapioca utilizadas fueron de la marca Boba&Yum®, las cuales tenían un color oscuro debido a su infusión con caramelos durante su elaboración.

IV.2 Métodos

IV.2.1 Obtención de harina de cáscara de plátano

Las cáscaras de plátano previamente enjuagadas y cortadas se colocaron en un deshidratador de alimentos a 40 °C por 24 horas (Gourmia GAF858). La materia seca se

pulverizó en un molino de café, y se pasó por una malla N°60 para conseguir un tamaño de partícula de 250 μm (Moreno, 2024).

IV.2.2 Elaboración de perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y L-teanina

Las perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y L-teanina (PCL) fueron elaboradas en la planta piloto, adecuada para alimentos, del laboratorio de toxicología de alimentos siguiendo las buenas prácticas de manufactura de alimentos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, con sus respectivos análisis microbiológicos para garantizar su seguridad e inocuidad.

Las perlas de tapioca se obtuvieron mediante el método de gelificación. Se colocó en baño María 1 g de almidón de tapioca por 6 minutos, o hasta que se formara un gel transparente. Este gel se mezcló con 0.5 g de harina de cáscara de plátano y 200 mg de LTH. Las PCL se moldearon manualmente para darles forma esférica, y luego se trataron térmicamente hirviéndolas por 20 min (Bulathgama *et al.*, 2020; Pranil *et al.*, 2020).

La preparación consideró que cada porción de 30 g de PCL contuviera 0.5 mg de fito-melatonina y 200 mg de LTH. Las PCL se conservaron en refrigeración (4 °C), por no más de 3 días, sin ser expuestas a la luz, ni al aire, por lo que fueron empacadas en bolsas de celofán, para evitar la degradación de la fito-melatonina.

IV.2.3 Análisis de perfil de textura de las perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y LTH

Se analizó el perfil de textura de las PCL mediante un ensayo de compresión de dos ciclos en un analizador de textura (Brookfield®, CT3). Para ello, se colocó una perla de muestra en una celda de carga de 100 g y se registraron las curvas de fuerza en función del tiempo. A partir de estas, el software del equipo (TexturePro CT®) determinó los parámetros de textura: la dureza (N) corresponde a la fuerza máxima del primer ciclo de compresión (F_1); la adhesividad (mJ) al área negativa tras el primer ciclo (A_3); la cohesividad (adimensional) a la relación entre las áreas bajo la curva del segundo y primer ciclo (A_2/A_1); la elasticidad (mm) a la relación de las distancias de compresión del

segundo respecto al primer ciclo (d_2/d_1); y la resiliencia (adimensional) a la relación entre el área de descompresión y el área de compresión, ambas del primer ciclo (A_5/A_4). Como parámetros secundarios, se reportó la gomosidad (N , $Dureza \times Cohesividad$), y masticabilidad (mJ , $Dureza \times Cohesividad \times Elasticidad$) (Aname, 2024). Se utilizó una sonda TA10 Cylinder y la velocidad de prueba se ajustó a 0.5 mm/seg, con una profundidad de 2 mm, una carga de activación de 0.1 N y una velocidad de datos de 50 puntos/segundo (Bulathgama *et al.*, 2020). Con fines comparativos, se incluyeron perlas de tapioca comerciales (COM), a las cuales se les realizó primero el perfil de textura antes de la elaboración de las PCL, con el objetivo de estandarizar la formulación y realizar las determinaciones adecuadas en las muestras a analizar. Además, se determinó el mismo análisis para las PCL y las COM después de que fueron sumergidas e hidratadas por la bebida durante 15 min.

IV.2.4 Caracterización química

Se determinó la composición química de la cáscara de plátano, de las PCL y de las COM, siguiendo las metodologías descritas en la AOAC.

IV.2.4.1 Determinación de humedad

El cálculo del porcentaje de humedad se determinó utilizando el método 950.46 de la AOAC (2002). Se colocaron 5 g de muestra en una charola de aluminio previamente tarada y se introdujo al horno a por 4 horas. Considerando que 1 g de muestra es el 100 %, se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{Peso inicial (g)} - \text{Peso seco (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} * 100$$

IV.2.4.2 Determinación de proteína

Se determinó la cantidad de proteína de acuerdo con el método 920.152 de la AOAC (2002), conocido como el método Kjeldahl. En tubos de digestión Kjeldahl se colocaron 0.5 g de muestra con una pastilla catalizadora compuesta de sulfato de sodio (Na_2SO_4) y sulfato de cobre (CuSO_4) y 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Los tubos se colocaron en la plancha del digestor a 400 °C por 85 minutos hasta que se observó un cambio de

color a verde claro. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente (27 °C) y se destilaron en un equipo BasicKjel agregándole hidróxido de sodio (NaOH) al 40 % v/v. Al destilado obtenido en un matraz Erlenmeyer de 250 ml se le agregaron 25 mL de ácido bórico (H_3BO_3) al 4 % v/v con indicadores rojo de metilo y verde de bromocresol. Posteriormente, las muestras se titularon con ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N hasta que la solución cambió a color rosa y alcanzó un pH de 5.4 aproximadamente. Para determinar el nitrógeno utilizado se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%N = \frac{A * B * C}{D} * 100$$

A = mL de HCl utilizado

B = concentración de HCl

C = $\mu\text{eq N}_2$ 0.014

D = peso de la muestra (g)

Para calcular el porcentaje de proteína en base seca se multiplicó el contenido de nitrógeno por el factor 6.25 para obtener el porcentaje en base húmeda. Posteriormente, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de proteína en base seca} = \frac{\% \text{ de proteína en base húmeda}}{\% \text{ muestra seca}} * 100$$

IV.2.4.3 Determinación de lípidos

Se determinó la cantidad de lípidos de acuerdo con el método 920.39 de la AOAC (2002). Se pesaron 1.5 g de muestra en un cartucho de celulosa y se colocaron dentro del compartimiento de extracción de Soxhlet. Los matraces se llenaron hasta dos terceras partes de su capacidad con éter de petróleo. La extracción se realizó por 10 ciclos de reflujo por 2 horas. Una vez recuperado el solvente, los matraces se colocaron en una estufa por 1 hora para ser secados. Posteriormente, se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron. Para el cálculo del porcentaje de lípidos en base seca por gramo de muestra se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ de lípidos en base seca} = \frac{\text{peso final del matraz} - \text{peso inicial del matraz}}{\text{peso de muestra seca}} * 100$$

IV.2.4.4 Determinación de cenizas

Se determinó la cantidad de cenizas de acuerdo con el método 945.46 de la AOAC (2002). Se colocaron 6 crisoles en una estufa a 80 °C por 24 horas para alcanzar un peso constante, se enfriaron hasta alcanzar la temperatura ambiente y se les agregó y se les agregó 2 g de muestra. Se colocaron en la parrilla de calentamiento dentro de una campana de extracción hasta que se obtuvieron cenizas blancas o se dejó de emitir humo. Los crisoles se colocaron en una mufla a 550 °C por 2 horas, una vez enfriados se pesaron nuevamente para calcular el contenido de ceniza utilizando la siguiente formula:

$$\Delta P = P_2 - P_1$$

ΔP = diferencia de pesos del crisol

P_1 = peso inicial del crisol

P_2 = peso final del crisol

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{\Delta P}{\text{peso de la muestra}} * 100$$

IV.2.4.5 Determinación de carbohidratos

El cálculo del porcentaje de carbohidratos por gramo de muestra se realizó por la diferencia de peso, con respecto a los porcentajes previamente obtenidos: humedad, proteína, lípidos y cenizas con la siguiente formula:

$$\% \text{ de carbohidratos} = 100 - \text{humedad} - \text{proteínas} - \text{lípidos} - \text{cenizas}$$

IV.2.4.6 Determinación de fibra total dietaria

IV.2.4.6.1 Fibra dietaria insoluble (FDI)

Se determinó la cantidad de fibra dietaria insoluble siguiendo la metodología de Shiga et al. (2003). Se pulverizaron y desgrasaron 2 g de muestra para adicionarle 50 mL de

solución amortiguadora de fosfato (0.08 M, pH = 6), se le agregó 10 µL de la enzima α-amilasa termoestable, cubriendo los frascos para protegerlos de la luz. La mezcla se incubó en baño maría a 95 ° C por 30 min con agitación cada 5 min, posterior a ello, se atemperó y se ajustó el pH a 7.5 con NaOH (0.275 N). Se añadió 100 µL de proteasa (50 mg/mL) y se incubó a 60 ° C por 30 min, se atemperó y se ajustó el pH a 4.5 con HCl (0.325 N). Finalmente se adicionaron 300 µL de amiloglucosidasa. Se incubó a 60 ° C por 30 min. Se continuó con la filtración con papel Whatman No. 4 a peso constante y se realizaron 2 lavados con agua destilada (aproximadamente 15 mL), los filtros con la muestra se secaron en una estufa a 60 °C por 24 h y se pesaron. El filtrado se recuperó para la cuantificación de fibra soluble. Los resultados se expresaron en % de base seca por g de muestra con la siguiente fórmula:

$$\% FDI = \frac{\text{Papel con muestra} - \text{Papel inicial}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

IV.2.4.6.2 Fibra dietaria soluble (FDS)

Al filtrado de la determinación de fibra insoluble se le agregó etanol a 80 % v/v en una proporción de 1:1 y se dejó reposar por 24 h para obtener un precipitado. Este se filtró con papel Whatman No. 42, se lavó dos veces con acetona al 80 % (aproximadamente 15 mL) y se dejó secar en una estufa a 60 °C por 24 h. Finalmente se pesó el papel filtro, los resultados se expresaron en % de base seca por g de muestra con la siguiente fórmula:

$$\% FDS = \frac{\text{Papel con muestra} - \text{Papel inicial}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

IV.2.4.7 Azúcares reductores

Se siguió la metodología de Nielsen (2003), donde se mezclaron 80 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 10 % con 150 mL de agua destilada, se agregaron 150 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado, para conseguir el reactivo de ácido dinitrosalicílico (DNS). La mezcla se calentó en baño María a 50 °C y se aforó a 500 mL con agua destilada. Posterior a ello, se tomó 1 mL del extracto etanólico (Sección IV.2.5.1) de las

muestras, se le adicionó 1 mL del reactivo de DNS y se calentó por 5 min en baño María. Se leyó la absorbancia a 540 nm y los resultados se expresaron como mg de sacarosa/gr de muestra.

IV.2.5 Caracterización nutraceútica

Se realizó la caracterización nutraceútica de la cáscara de plátano, de las PCL, de la bebida Cold Brew y de la bebida Cold Brew con las PCL.

IV.2.5.1 Extracto etanólico

La extracción etanólica se empleó para la cuantificación de compuestos bioactivos por su eficiencia en disolver y extraer estas moléculas de diversas matrices alimentarias. Para la bebida con las PCL se realizó primero una homogeneización de la bebida. Se molieron 5 g de PCL con 30 mL de la bebida por 40 seg en un procesador de alimentos a temperatura ambiente. Posteriormente, se homogenizó por 10 minutos a una velocidad de rotación de 20,000 rpm en un homogeneizador (Cui *et al.*, 2022).

Para la extracción etanólica se siguió la metodología de Zhang *et al.* (2022) con modificaciones de Rosales (2023). Se suspendió 1 g de muestra en 10 mL de etanol al 50 %, la muestra se homogeneizó por 1 minuto en un vórtex y se sonicó por 40 minutos a 40 kHz a 20 °C (Branson® CPXH). La solución se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos a 4 °C para recuperar el sobrenadante por filtración con papel Whatman No. 42. Este se refrigeró y se protegió de la luz.

IV.2.5.2 Cuantificación de fenoles totales

Para la cuantificación de fenoles se siguió la metodología descrita por Singleton *et al.* (1999). El reactivo de Folin-Ciocalteu se diluyó con agua destilada (1:10 v/v) antes de su uso. Se preparó una solución de ácido gálico ($C_7H_6O_5$) con 0.1 mg/ml para realizar una curva estándar (10-100 µg). Para la lectura en placa se tomaron 30 µL del extracto etanólico y se adicionaron 150 µL del reactivo de Folin y 120 µL de carbonato de sodio (Na_2CO_3). Protegiendo de la luz, se dejaron en reposo durante 30 minutos para posteriormente medir la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV-sensible con

lector de microplacas. Los fenoles cuantificados se expresaron como μg equivalentes de ácido gálico (μg EAG/g de muestra).

IV.2.5.3 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Esta determinación fue a partir de los extractos extraídos y de acuerdo con la metodología de Sánchez-Quezada (2023) se utilizó un equipo HPLC con un detector de arreglo de diodos (DAD). Para la separación de compuestos se utilizó 50 % de fase móvil A (agua acidificada con ácido fórmico al 1 %), 50 % de fase móvil B (100 % acetonitrilo), y una columna C-18. Todos los análisis se realizaron a 25 °C y el flujo de la fase móvil se fijó en 1 mL/min con un volumen de inyección de 20 μL . Para la cuantificación se utilizó el método de estándar externo con los estándares comerciales de trigonelina, cafeína y ácidos clorogénicos. Para la caracterización de la bebida, se tomó en cuenta el desarrollo de una bebida tipo Cold Brew con pulpa de café y café de desmanche, elaborada por Rosales (2023). Esta bebida contiene una cantidad de 24 μg de cafeína por 60 mL de porción. Según la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), la dosis recomendada de cafeína para niños y adolescentes es de no más de 100 mg/día o 2.5 mg/kg/día (Jessel *et al.*, 2023). La pulpa de café cuenta con 1 mg de cafeína/g, por lo que, la cantidad de cafeína está en los rangos seguros y no tiene efecto en el estado de alerta (Rosales, 2023).

IV.2.5.4 Cuantificación de flavonoides totales

Los flavonoides totales se cuantificaron utilizando la metodología descrita por Hairi *et al.* (1991) con las modificaciones realizadas por Oomah *et al.* (2005). Se tomaron 50 μL de los extractos etanólicos previamente extraídos y de la bebida Cold Brew, se agregaron 180 μL de agua destilada y 20 μL de solución de 2-aminoetildifenilborato al 1 % en metanol. Las muestras se midieron inmediatamente a una absorbancia de 404 nm en un lector de microplacas. Se realizó una curva estándar de rutina con un intervalo de 0-50 μg . Los resultados se expresaron como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra.

IV.2.5.5 Cuantificación de melanoidinas

El contenido de melanoidinas se determinó de acuerdo con la metodología de Iriondo-De Hond *et al.* (2020). Los extractos se analizaron espectrofotométricamente a una absorbancia de 420 nm. Se utilizó caramelo como estándar y los resultados se expresaron como mg de caramelo/gr de muestra.

IV.2.5.6 Contenido de fito-melatonina

IV.2.5.6.1 Extracción de fito-melatonina

Para la extracción se utilizó la cáscara de plátano, las PCL, la bebida Cold Brew con PCL homogeneizada y la bebida Cold Brew sin PCL. Se utilizó el método de Oladi *et al.* (2014) en donde se pesaron 0.5 g de muestra y se le añadieron 26 mL de metanol. Las muestras se sometieron a un baño de ultrasonido con sonicación a 40 kHz por 10 minutos, luego se centrifugaron a 3,872 g por 5 minutos. El sobrenadante recuperado se filtró utilizando un acro disco de poro de 0.2 µm.

IV.2.5.6.2 Cuantificación de fito-melatonina

Se obtuvo una curva de calibración utilizando un estándar de melatonina con concentraciones de 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14 y 0.16 µg/mL. Se colocaron 250 µL de cada solución y del extracto de fito-melatonina en una placa de micropozos oscura y se realizaron las lecturas en un lector de placas con lámpara de fluorescencia utilizando una longitud de onda de excitación de 275 nm y una longitud de emisión de 366 nm. La concentración se determinó a partir de la curva de calibración y los resultados se expresaron como µg equivalentes de melatonina por gramo de muestra.

I.V.2.5.7 Cuantificación de L-teanina

Se siguió la metodología propuesta por Csupor *et al.* (2014) utilizando un detector de fotodiodos y una columna de fase reversa C18 a 25 °C. La elución cromatográfica se realizó mediante un sistema isocrático compuesto por H₂O al 100 % con un caudal de 0.85 mL/min. Después de 4 min, la columna se lavó con un gradiente de H₂O:acetonitrilo (4 min, 100 % H₂O 0.85 mL/min; 5 min, 0 % H₂O 2 mL/min; 10 min, 0 % H₂O 2 mL/min;

11 min, 100 % H₂O, 2 mL/min; 14 min, 100 % H₂O, 2 mL/min; 15 min, 100 % H₂O, 0.85 mL/min de caudal). Para el análisis, se inyectaron 10 µL del extracto. La LTH se monitorizó a 210 nm.

IV.2.6 Capacidad antioxidante

Se determinó la capacidad antioxidante de las PCL, de la bebida Cold Brew y de la bebida Cold Brew con las PCL mediante los métodos DPPH y ORAC. Del mismo modo, de las PCL se midió la capacidad antioxidante Quick, Easy, New, CHEap and Reproducible (QUENCHER) (Q-DPPH), con el fin de analizar directamente sobre la muestra, considerando toda la matriz del producto, sin hacer una extracción líquida previa.

IV.2.6.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH

Para esta medición se utilizó el método propuesto por Fukumoto & Mazza (2000), en donde se utilizó el ensayo de decoloración 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) adaptado a microplaca. Se añadieron 20 µL de extracto etanólico y 200 µL de solución DPPH en una microplaca de 96 pozos. Se utilizó un control elaborado por 20 µL de metanol y 200 µL de DPPH. Las muestras se leyeron cada 10 min por 90 min a una longitud de onda de 520 nm con ayuda de un espectrofotómetro con lector de microplacas. Se midió la capacidad antioxidante con una curva de calibración de trolox (0-800 µM), los resultados fueron expresados como equivalentes de trolox (Acido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2 carboxílico) en µmol equivalentes de trolox/g de muestra.

IV.2.6.2 Capacidad antioxidante por el método ORAC

Para esta medición se utilizó el método propuesto por Prior *et al.* (2005) las muestras se disolvieron en un amortiguador de fosfatos (75 mM, pH 7.4) en una relación 1:4, se centrifugó a 2,000 g por 15 minutos para recuperar el sobrenadante. En las placas del Espectrofluorómetro se pusieron 20 µL de muestra donde se mezclaron con fluorescencia (82 nM) y se preincubaron a 37 °C por 30 minutos. Posteriormente se añadió la solución de AAPH (diclorhidrato de 2,2'-azobis (2-amidino-propano)) (145 µM) y se agitó la placa por 15 segundos. La fluorescencia se registró cada minuto por 150

min con filtros de excitación de 485 nm y emisión de 530 nm. Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol TE/g}$ de muestra.

IV.2.6.3 Capacidad antioxidante por el método QUENCHER DPPH

La capacidad antioxidante QUENCHER DPPH (Q-DPPH) se determinó siguiendo la metodología propuesta por Del Pino-García *et al.* (2015). Las muestras se deshidrataron hasta contener $<10\%$ de humedad, se molieron con un molino de café y se tamizaron a través de una malla de N°60, para estandarizar el tamaño de partícula a 0.25 mm aproximadamente. Posterior a ello, se preparó una curva de calibración usando Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), para después preparar la solución de DPPH en metanol puro para obtener una solución de 0.1 mM. Se midió la absorbancia de la solución a 517 nm y se ajustó diluyéndola con metanol hasta conseguir una absorbancia de 0.70, con el fin de conseguir una solución DPPH con la molaridad adecuada. Después, se introdujo 1 mg de muestra en un tubo de ensayo con 10 mL de la solución DPPH y se agitó de forma constante por 30 min a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 517 nm y se restó el valor obtenido de la absorbancia de la solución de DPPH inicial, poder obtener la disminución causada por la muestra. Los resultados se expresaron como $\mu\text{mol equivalentes de Trolox (TE)}$ por gramo de muestra seca.

IV.2.7 Determinación de las características físicas y químicas de las bebidas (Sólidos Disueltos Totales, sólidos solubles y pH)

Los sólidos disueltos ($^{\circ}\text{Brix}$) se calcularon utilizando un refractómetro digital utilizando dos gotas de muestra previamente centrifugada a 6,000 rpm por 30 segundos en una centrífuga a temperatura ambiente, los resultados se registraron en mg/L. El pH se determinó por el método potenciométrico utilizando un medidor de pH a temperatura ambiente, el cual se calibró utilizando estándares de calibración ácido (4.01), neutral (7.0) y básico (10.01). Mientras que la acidez titulable se midió añadiendo 3 gotas de fenolftaleína a las muestras y se le fue añadiendo NaOH al 0.1 M a través de una bureta, por goteo, hasta que la muestra cambiara de color (Batali *et al.*, 2022).

Los sólidos disueltos totales (SDT) se midieron por el método de gravimetría, donde se pesaron 5.5 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se vertieron 100 mL de agua hirviendo (97-99 °C), dejando reposar por 4 min cubriendo el matraz para evitar la evaporación excesiva. Posteriormente, se pasó la mezcla, por un tamiz, a otro matraz previamente pesado (m_0) y se dejó alcanzar la temperatura ambiente (26-27 °C). Se calentó el matraz con el filtrado sobre una placa calefactora mantenida a 100 °C y de este modo evaporar todo el líquido. Se introdujo el matraz conteniendo los SDT a un horno de aire caliente a 100 °C por 15 min para eliminar la humedad residual y se dejó alcanzar la temperatura ambiente (26 °C). Finalmente, se realizó la medición de masa (m_1), los resultados se expresaron como % p/v (gr de SDT por 100 mL de muestra) (Raksha & Harohally, 2024).

$$SDT(\%) = \frac{m_1 - m_0}{mL \text{ de infusión}} * 100$$

Las determinaciones de SDT para el Cold Brew con las PCL se realizaron en diferentes tiempos (0, 15, 30 y 60 min) con el fin de evaluar la estabilidad de las PCL dentro de la bebida.

IV.2.8 Análisis microbiológico

Este análisis se realizó para las PCL. Se utilizaron los métodos reportados las normas siguientes para el control de riesgos microbianos: la NOM-092-SSA-1-1994 para la cuantificación de bacterias mesófilas aerobias totales, la NOM-111-SSA-1-1994 para la cuenta total de hongos y levaduras, la NOM210-SSA1-2014 para la cuenta de coliformes totales y microorganismos indicadores como *Escherichia coli* y la NOM-143-SSA1-1995 para la determinación de *Salmonella*. Para la evaluación de la calidad microbiológica e inocuidad de la bebida Cold Brew con las PCL, se enviaron 100 g del lote al Laboratorio de control y análisis microbiológico de alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (LECRIMA UAQ).

IV.2.9 Evaluación sensorial

El estudio de evaluación sensorial se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, la Ley General de Salud y las pautas del CIOMS. Se preparó a bebida y las perlas como se describe en IV.2.2. Se hizo el estudio para determinar la aceptabilidad del Cold Brew con las PCL una vez sometidas las pruebas microbiológicas descritas, para evitar cualquier riesgo durante la investigación. Las bebidas (10 mL por porción) y las PCL (320 g por porción) se almacenaron en refrigeración (4 °C) en contenedores adecuados para alimentos, las PCL se hidrataron en la bebida hasta el momento de la evaluación sensorial.

IV.2.9.1 Reclutamiento de participantes

El reclutamiento de participantes se realizó a través de una invitación abierta a participar en el estudio a través de carteles (**Anexo 1**) dentro de la Universidad Autónoma de Querétaro dentro de la Facultad de Química y a través de redes sociales. Los participantes recibieron una plática informativa y dieron su consentimiento informado por escrito (**Anexo 2**), o en dado caso, firmar la carta de revocación de consentimiento (**Anexo 3**). Para la firma del consentimiento informado, los participantes fueron citados en el Laboratorio de Bioquímica Toxicológica del Posgrado de Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro dentro de la Facultad de Química. Se entregó y explicó el consentimiento informado de forma oral y escrita, asegurando comprensión y dando oportunidad para preguntas. Del mismo modo, para asegurar que los panelistas estuvieran en condiciones de participar se realizó un cuestionario previo, con declaración directa del participante, para identificar el estado de salud general. En donde se evaluó el padecimiento de enfermedades crónicas o agudas, consumo de medicamentos o suplementos que puedan afectar la percepción sensorial, y alergias o intolerancias a ingredientes del producto (**Anexo 4**). Esto, con el fin de minimizar riesgos para que el estudio estuviera alineado a las buenas prácticas de un análisis sensorial.

IV.2.9.2 Criterios de inclusión

- Participación voluntaria
- Consentimiento informado firmado

- Evaluación previa para identificar el estado de salud general del participante
- Consumidores habituales de café y/o “Bubble tea”
- Consumidores de entre 18 y 55 años

IV.2.9.3 Criterios de exclusión

- Consumo de drogas
- Consumo de alcohol en las últimas 24 horas
- Intolerancia a la cafeína
- Mujeres embarazadas o lactantes
- Cualquier persona que presentara alguna condición que pueda considerarse de riesgo para el participante

IV.2.9.4 Criterios de eliminación

- Cualquier participante que decidiera abandonar el estudio
- Cualquier participante que no asistiera a alguna sesión requerida
- Falta de respeto al equipo de trabajo

IV.2.9.5 Aclaraciones

- La decisión de participar en la investigación fue completamente voluntaria, por lo que se podía abandonar la participación en cualquier momento.
- La información generada por la investigación fue mantenida en estricta confidencialidad, conforme a la normatividad vigente.
- El participante podía solicitar información actualizada de la investigación en cualquier momento al investigador responsable.
- El participante recibió respuesta cualquier pregunta, duda o aclaración acerca de los procedimientos, riesgos o beneficios que estén relacionados a la investigación.
- Dado que, dentro de los posibles participantes estuvo el alumnado de la Universidad Autónoma de Querétaro, y se considera un grupo vulnerable, se dejó especificado dentro del consentimiento informado que no había repercusiones académicas ni profesionales y no afectaría la relación con el personal investigador

en dado caso de que el estudiante no quisiera participar o deseara abandonar el análisis sensorial en curso.

- No se pidió aporte económico, ni se dio pago por la participación en la investigación.
- El presente estudio mostró un riesgo mínimo si se llegara a presentar alguna intolerancia a alguno de los compuestos de la muestra.
- En caso de tener alguna duda sobre el resguardo de la información del participante, su participación en esta investigación o comentarios podía dirigirse con la I.I.A. Grecia Lizbeth Ramírez al número telefónico: 442 36 77 911, o con la investigadora a cargo la Dra. Rocio Campos Vega al correo electrónico: chio_cve@yahoo.com.mx.
- En caso de presentar alguna reacción adversa secundaria no prevista durante la investigación, el participante sería canalizado inmediatamente al consultorio médico de servicios de salud de FarmaUAQ de la Universidad Autónoma de Querétaro, ubicada en la explanada de rectoría.
- Del mismo modo, en caso de reacción adversa, el participante sería atendido y la información sería manejada con estricta confidencialidad.

IV.2.9.6 Diseño del estudio

Se realizó una intervención aguda, controlada dentro de los mismos sujetos, con personas adultas, voluntarias y de sexo indistinto, que no cuenten con hipertensión, diabetes, o enfermedades neurológicas. El tamaño del estudio fue de al menos 60 panelistas para obtener resultados significativos, de acuerdo con lo reportado para este tipo de estudio, basado en una significancia del 5 % y un intervalo de confianza del 95 %. Los panelistas debieron ser consumidores habituales de Cold Brew y/o Bubble tea, de entre 18 y 55 años, sin entrenamiento en evaluaciones sensoriales o afectivas y sin ninguna relación con el proceso de elaboración e investigación del producto. Se realizaron dos pruebas sensoriales, una prueba afectiva de escala hedónica de 9 puntos (me disgusta muchísimo, me disgusta mucho, me disgusta moderadamente, me disgusta poco, ni me gusta ni me disgusta, me gusta poco, me gusta moderadamente, me gusta mucho y me gusta muchísimo) y una prueba de preferencia, donde el panelista eligió

entre la bebida Cold Brew con las perlas desarrolladas, la bebida Cold Brew con las perlas desarrolladas, pero sumergidas en jarabe de sacarosa (50 %) y la bebida Cold Brew con perlas comerciales (Ramírez, 2012). El estudio tuvo una duración de máximo 15 minutos.

IV.2.9.7 Tratamientos

Se administraron tres tratamientos: la bebida Cold Brew con las PCL y la bebida Cold Brew con COM y la bebida Cold Brew con las PCL con jarabe al 50 %.

IV.2.9.8 Formatos del análisis sensorial

Prueba hedónica de 9 puntos

Instrucciones: Por favor, pruebe la prueba e indique el grado en el que le guste o le disguste la muestra, de acuerdo con la categoría correspondiente.

Puntaje	Calificación
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta poco
5	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me disgusta poco
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Olor	Color	Sabor	Textura

Evaluación comparativa

Instrucciones: Por favor, pruebe cada muestra e indique con una X la de su preferencia

Muestra A	Muestra B	Muestra C
-----------	-----------	-----------

--	--	--

¡Muchas gracias por su participación!

IV.2.10 Estudio de efecto relajante en pez cebra adulto

IV.2.10.1 Selección de peces cebra

Se utilizaron peces cebra adultos (6 meses de edad) con una talla de aproximadamente 3.5-4.0 cm, un peso de 400-650 mg y sin hacer distinción de sexo (dos Santos-Sampaio, 2018). Se utilizaron seis grupos de peces (n=24 peces por tratamiento) para realizar los estudios del efecto relajante: 1-el control negativo, al que no se le suministró ningún tratamiento, más que su comida habitual (25 mg); 2-el grupo al que se le dio la base de las perlas desarrolladas con el Cold Brew (25 mg) (BASE), 3-el grupo con el Cold Brew con las PCL (25 mg) (PCL) y tres controles positivos, 4-el grupo con LTH (9mg/200mL), 5-el grupo con melatonina (0.32 mg/200 mL) (MEL) y 6- la combinación de LTH y melatonina (LTH+MEL).

IV.2.10.2 Protocolo de experimentación

Los grupos de peces fueron climatizados por una semana en un tanque de 70 L, con agua de clorada, a 28 °C y un pH de 7. Se adecuaron a un ritmo circadiano normal (12 h de luz y 12 h de oscuridad) y se les dio alimento comercial adecuado para pez cebra adulto una vez al día. Como pretratamiento, los animales fueron seleccionados aleatoriamente y fueron introducidos individualmente, en vasos de precipitado con 200 mL de agua del tanque por dos horas. Posterior a ello, se les suministró el tratamiento en cuestión por 60 min en los vasos de precipitado de manera individual, antes de la prueba se estresaron los peces por 3 min reduciéndoles le agua a 50 mL. Finalmente, se introdujeron individualmente en peceras de 30x10x10 cm (largo x ancho x alto) para cada uno de los experimentos, las peceras fueron limpiadas después de cada experimento (dos Santos-Sampaio, 2018; Gebauer *et al.*, 2011).

Se llevaron a cabo dos pruebas para evaluar el efecto relajante en el pez cebra. Cada prueba tuvo 24 réplicas por tratamiento para garantizar la reproducibilidad de los resultados. En cada experimento, se incluyeron seis grupos experimentales, con 24 peces por grupo, sumando 144 peces por prueba. Por lo tanto, para ambas pruebas, se utilizaron 288 peces.

Para monitorear la actividad motora de los peces y el efecto de los tratamientos se colocaron dos videocámaras Wyze® Cam V3 a 60 cm de las peceras durante las evaluaciones. Esto, con el fin de tener los estudios grabados para su posterior análisis.

Para la aseguración del bienestar de los peces, estos se mantuvieron en condiciones adecuadas: agua de clorada, a 26-28 °C, a pH de 6.5 a 7.5, >95 % oxígeno disuelto, 550-650 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de conductividad y un ciclo de sueño-vigilia de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Del mismo modo, se limpiaron los tanques regularmente y se realizaron observaciones directas y periódicas con ayuda del personal entrenado para ver el comportamiento de los peces, comparándolo con el control y asegurar su bienestar (Santos *et al.*, 2023).

El protocolo de experimentación con los peces cebra fue adecuado con el Código Sanitario para los Animales Acuáticos de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2024) y con la Guía de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto de Investigación para Animales de Laboratorio (National Research Council *et al.*, 2011). De igual forma, se siguieron las bases éticas y especificaciones técnicas para el manejo y cuidado de animales de laboratorio usados en investigación científica dentro de México, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

IV.2.10.3 Prueba de luz y oscuridad (LDT)

Esta prueba se realizó dividiendo la pecera de manera vertical en dos partes iguales (15x10x10 cm) una parte fue cubierta con una tela oscura y la otra descubierta. Los peces se colocaron en la zona con luz, para que nadaran libremente. Se observó el comportamiento del pez dentro de un intervalo de 6 min, y se analizó: 1-latencia en entrar por primera vez al lado oscuro (seg), 2-el tiempo que pasa en el compartimiento con luz (seg), 3-el número de transiciones entre compartimientos, 4-número de “episodios de

congelación”, cuando el pez deja de moverse en su totalidad a excepción de los ojos y las branquias; y 5-el tiempo de los episodios de congelación (seg). Entre más tiempo estaba el pez en el compartimiento con luz, se consideró mayor era el efecto relajante (Gebauer *et al.*, 2011).

IV.2.10.4 Prueba de buceo en tanque (NTT)

Se siguió la experimentación sugerida por Santos *et al.* (2023). Las pruebas se realizaron en peceras de 30x10x10 cm (largo x ancho x alto) con un nivel de agua del hábitat hasta 8 cm. Esta prueba se basa en la división equitativa horizontal de la pecera en dos partes: zona superior e inferior; quedando cada división de 4 cm de alto. Los peces cebra al estar en un hábitat nuevo suelen irse al fondo de la pecera y comienzan a explorar zonas superiores una vez aclimatizados y menos ansiosos. Después de darles los tratamientos, los peces se colocaron de manera individual en las peceras y se observó su comportamiento por 6 min, analizando 1-la latencia en pasar por primera vez al lado superior (seg), 2-el tiempo que pasa el pez en la zona superior (seg), 3-número de transiciones entre zonas, 4-número de veces de “episodios de congelación” y 5-el tiempo de los episodios de congelación. Entre más tiempo estuvo el pez en la parte superior sin movimientos erráticos, mayor fue el efecto relajante.

IV.2.10.5 Eutanasia, recolección de muestras y manejo de RPBI

Como criterios de retiro y finalización del procedimiento con los peces se analizaron signos de sufrimiento, enfermedades, heridas, el deterioro del estado general de salud que no pueda ser revertido o algún efecto adverso por parte de alguno de los tratamientos. Por lo tanto, el método de eutanasia se llevó a cabo por choque hipotérmico, el cual minimiza el sufrimiento y el estrés previo, de acuerdo con el procedimiento descrito por la Directiva 2010/63/UE y las recomendaciones de la OIE (2024). Este método consiste en el traslado de los peces a un recipiente con agua a temperatura ambiente (26-28 °C), la cual fue reducida gradualmente hasta los dos 2 °C, aproximadamente. La eutanasia de los peces fue realizada por personal entrenado en técnicas de manejo y bienestar animal acuático y se confirmó la ausencia de signos vitales, como el movimiento y respiración. Una vez confirmada la muerte de los peces,

se hizo una recolección de los residuos biológicos infecciosos (RPBI) generados, como los cadáveres, el material contaminado (guantes, tubos, papel) y las muestras biológicas, siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Los RPBI se almacenaron en contenedores rígidos etiquetados y adecuados para residuos biológicos. Posteriormente, para su disposición final se incineraron para garantizar la destrucción completa de agentes biológicos, del mismo modo, se mantuvieron registros detallados de la generación, manejo y disposición de los RPBI para cualquier seguimiento posterior.

V ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los análisis de textura (comparación de las PCL de las COM antes y después de la hidratación) se utilizó una prueba t de Student. Para la composición química, nutracéutica y capacidad antioxidante (cáscara de plátano, PCL, COM y CB), así como para los parámetros fisicoquímicos de las bebidas (CB, CB+PCL, CB+COM), los datos se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor. Para determinar las diferencias significativas entre los grupos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$). Adicionalmente, se empleó el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la relación entre la capacidad antioxidante y la composición nutracéutica de las muestras.

La prueba de preferencia en el análisis sensorial se evaluó mediante la prueba no paramétrica de Chi-cuadrada ($p < 0.05$) con el fin de identificar diferencias significativas en las proporciones de elección para cada muestra.

Para los ensayos *in vivo* del efecto relajante (pruebas de luz/oscuridad y Novel Tank), cada pez fue considerado como unidad experimental independiente ($n=24$ por tratamiento). Se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables continuas que cumplieron con la normalidad y homocedasticidad se analizaron mediante un ANOVA de un factor seguido de la prueba post-hoc de Tukey ($p < 0.05$). Para los datos continuos con distribución normal, pero sin homogeneidad de varianzas, se aplicó el ANOVA de Welch seguido de la prueba post-hoc de Games-Howell ($p < 0.05$). Estos datos se expresaron como la media $\pm$ Desviación Estándar (DE). Para las variables categóricas de comportamiento (ocurrencia de latencia y episodios de congelación), se empleó la prueba de Chi-cuadrada seguida de un análisis post-hoc por pares ajustado mediante el método de Benjamini-Hochberg ($p < 0.05$). Adicionalmente, para analizar la distribución en la intensidad de los episodios, se empleó la prueba de Chi-cuadrada de Pearson. Las diferencias significativas entre los grupos se identificaron mediante el análisis de residuos ajustados, considerando como significativos los valores $>|1.96|$. Los datos categóricos se expresaron como proporciones porcentuales $\pm$ Intervalo de Confianza al 95% (IC 95%).

Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando el software estadístico Minitab® 19.2.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1 Análisis de textura de las perlas

Después del proceso de cocción, se compararon las PCL con las COM antes y después de ser hidratadas en la bebida por 15 min (**Cuadro 9**). En el análisis de textura se determinó la dureza, adhesividad, resiliencia, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad de ambas perlas. Se observó que antes de la hidratación las COM y las PCL mostraron diferencias en la dureza del ciclo 2 (indicador de la resistencia estructural que conserva la perla tras la deformación inicial), gomosidad, masticabilidad y en la cohesividad, siendo las tres primeras mayor en las PCL. Una vez que ambas perlas se hidrataron en la bebida, ya no presentaron diferencias entre la cohesividad y la gomosidad; sin embargo, el valor de resiliencia fue mayor para las COM, y la dureza y masticabilidad siguieron más altas para las PCL. Esto indica que las COM tienen una mejor capacidad de recuperarse (resiliencia) después de una deformación al compararlas con las PCL (0.88 y 0.80, respectivamente) y las PCL requieren mayor energía a la hora de masticar, teniendo un valor de 1.11 mJ en comparación con las COM (0.80 mJ). Esto, se puede observar de igual forma con los valores de dureza en el ciclo 2 (0.58 y 0.52 N, respectivamente), es decir, se observa el comportamiento descrito por Smirnov *et al.* (2025): dureza en los alimentos tiene una correlación positiva con su masticabilidad y su firmeza.

Por otro lado, la hidratación por la bebida provocó una disminución en cuatro determinaciones de las PCL (dureza en el ciclo 1, adhesividad, cohesividad y gomosidad). La disminución en la dureza en el ciclo 1 fue evidente en las COM (de 0.62 a 0.54 N), así como en la adhesividad (PCL: de 0.22 a 0.09; COM: de 0.23 a 0.10 mJ). Esto se debe a que el agua sirve como lubricante en las perlas reduciendo su rigidez debido a una mayor hidratación, o humedad en el sistema, disminuyendo la dureza y la adhesividad del producto. Sin embargo, la resiliencia en ambas perlas aumentó con la hidratación, indicando que el agua le permite a la perla regresar a su forma inicial con mayor facilidad después de administrarle agua al sistema (Smirnov *et al.*, 2025).

En el estudio de Mauro *et al.* (2023), la elasticidad de un gel de tapioca disminuye conforme la cantidad de agua aumenta; debido a que, una mayor cantidad de agua (menor concentración de almidón en el sistema) resulta en una menor elasticidad y resiliencia. Sin embargo, ambos parámetros incrementaron con la adición de agua: la elasticidad de 0.69 a 1.77 mm en PCL y de 0.74 a 1.85 mm en COM, mientras que la resiliencia aumentó de 0.75 a 0.80 en PCL y de 0.78 a 0.88 en COM. Esto sugiere que el agua facilita la recuperación del material tras la deformación, incrementando su flexibilidad. Por lo tanto, se sugiere que la concentración inicial de agua en la elaboración de las PCL fue la necesaria, para que una vez sean hidratadas por la bebida, se obtengan los valores de elasticidad y resiliencia máximos. Es decir, se esperaría que, si las perlas de hidrataran una segunda vez, los valores de estas determinaciones comenzaran a disminuir.

Cuadro 9. Análisis de textura de las PCL y COM antes y después de ser hidratadas.

Determinación	Antes de ser hidratadas¹		Después de ser hidratadas²	
	PCL	COM	PCL	COM
Ciclo 1 Dureza (N)	0.66 ± 0.06 ^{Aa}	0.62 ± 0.08 ^{Aa}	0.60 ± 0.07 ^{Ab}	0.54 ± 0.08 ^{Ab}
Adhesividad (mJ)	0.22 ± 0.08 ^{Aa}	0.23 ± 0.07 ^{Aa}	0.09 ± 0.02 ^{Ab}	0.10 ± 0.02 ^{Ab}
Resiliencia	0.75 ± 0.03 ^{Ab}	0.78 ± 0.10 ^{Ab}	0.80 ± 0.08 ^{Ba}	0.88 ± 0.07 ^{Aa}
Ciclo 2 Dureza (N)	0.60 ± 0.06 ^{Aa}	0.46 ± 0.10 ^{Ba}	0.58 ± 0.08 ^{Aa}	0.52 ± 0.08 ^{Ba}
Cohesividad	0.68 ± 0.09 ^{Ba}	0.93 ± 0.23 ^{Aa}	0.99 ± 0.14 ^{Ab}	1.02 ± 0.17 ^{Aa}
Elasticidad (mm)	0.69 ± 0.16 ^{Ab}	0.74 ± 0.18 ^{Ab}	1.77 ± 0.16 ^{Ab}	1.85 ± 0.45 ^{Ab}
Gomosidad (N)	0.70 ± 0.04 ^{Aa}	0.59 ± 0.14 ^{Ba}	0.62 ± 0.09 ^{Ab}	0.55 ± 0.22 ^{Ab}
Masticabilidad (mJ)	1.14 ± 0.11 ^{Aa}	0.86 ± 0.22 ^{Ba}	1.11 ± 0.22 ^{Aa}	0.80 ± 0.21 ^{Ba}

Los valores se presentan como la media ± la desviación estándar. ¹Después del proceso de cocción sin ser hidratadas. ²Después del proceso de cocción e hidratadas en la bebida por 15 minutos. Las letras mayúsculas indican diferencias significativas entre las muestras dentro del mismo estado de hidratación por determinación. Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre los estados de hidratación para una misma muestra, por determinación (Tukey para diferenciar medias, $p < 0.05$).

VI.2 Caracterización química

En el **Cuadro 10** se muestra la composición nutrimental de la HCP, las PCL y las COM. Los resultados de la HCP corresponden a base seca, mientras que la caracterización de las perlas se realizó en base húmeda, por lo que las comparaciones estadísticas se realizaron de manera exclusiva entre PCL y COM. En las tres muestras el componente mayoritario son los carbohidratos, siendo la harina de cáscara de plátano (HCP) el de mayor cantidad (68.04 %), seguida de las COM (31.94 %) y las PCL (29.19 %). La HCP es un producto con un alto valor nutricional, particularmente por su contenido de fibra y minerales. La fibra es predominantemente insoluble (37.91 %) en comparación con la fibra soluble (6.49 %). Esta proporción, de fibra insoluble, es típica en las estructuras fibrosas como hemi-celulosa y celulosa, lo que le confiere a la HCP potencial para mejorar el tránsito intestinal y el volumen fecal, mientras que la fracción soluble (pectinas y oligosacáridos) contribuye a los efectos prebióticos por su capacidad de fermentación homogénea (Fu *et al.*, 2022).

Del mismo modo, se ha reportado que la HCP presenta un notable contenido de cenizas (13.11 %) el cual está constituido principalmente por potasio (hasta 78.10 mg/g), manganeso, calcio y sodio. Estos minerales juegan un rol importante en funciones fisiológicas dentro del cuerpo humano como las formaciones de órganos, el movimiento muscular o vías metabólicas. Las determinaciones de la HCP fueron, en su mayoría, similares a lo reportado por Ansari *et al.* (2023). Sin embargo, el contenido de cenizas y carbohidratos fue un poco mayor en el presente estudio, dado que ellos reportaron de 8.50 a 12.45 % de cenizas, y 43.40 – 63.82 % para carbohidratos, lo cual se puede atribuir al estado de madurez y las condiciones postcosecha. Ya que ambos factores influyen en la concentración de minerales (cenizas) y en la distribución de los carbohidratos, modificando los valores obtenidos mediante el análisis proximal.

Cuadro 10. Caracterización química de la harina de cáscara de plátano, PCL y COM (%) en base seca.

	HCP ¹	PCL ²	COM ³
Aporte calórico (kcal/100 g)	188.0	358.3	341.7
Humedad	4.9 ± 0.49 ^b	10.6 ± 0.05 ^a	10.6 ± 0.03 ^a
Proteína	6.2 ± 0.46 ^a	2.9 ± 0.24 ^b	1.7 ± 0.12 ^b
Lípidos	7.6 ± 0.09 ^a	5.9 ± 0.59 ^b	5.3 ± 0.47 ^b
Cenizas	13.1 ± 0.39 ^a	1.3 ± 0.05 ^b	0.70 ± 0.01 ^b
Carbohidratos⁴	68.1 ± 0.51 ^c	79.3 ± 0.28 ^b	81.7 ± 0.29 ^a
Azúcares reductores	19.1 ± 0.62 ^a	0.36 ± 0.02 ^b	0.64 ± 0.03 ^b
Fibra dietaria total	44.4 ± 0.91 ^a	5.9 ± 0.37 ^c	9.9 ± 0.78 ^b
Fibra insoluble	37.9 ± 0.81 ^a	3.3 ± 0.36 ^b	1.7 ± 0.12 ^c
Fibra soluble	6.5 ± 0.42 ^a	2.6 ± 0.10 ^c	4.1 ± 0.40 ^b

Los valores se presentan como la media ± la desviación estándar. ¹Harina de cáscara de plátano (base seca). ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH (base húmeda). ³Perlas comerciales (base húmeda). ⁴Se calculó por diferencia de determinaciones. Los valores se presentan como la media ± DE (n = 3). Diferentes letras indican diferencias significativas entre muestras de acuerdo con el ANOVA de una vía realizado, seguido de la prueba post-hoc Tukey para diferenciar medias (p < 0.05).

Por otro lado, las PCL y las COM tienen una cantidad importante de humedad, 62.73 y 61.61 % respectivamente, dado que durante su elaboración son sometidas a cocción en agua hirviendo, lo que genera una red de almidón que conserva agua (Smirnov *et al.*, 2025). Con respecto al contenido fibra dietaria, las COM contienen significativamente más fibra dietaria total (5.46 %) que las PCL (3.07 %), lo cual se puede inferir a que probablemente durante la elaboración de las COM se les adiciona pectinas o algún aditivo para mejorar la consistencia o estabilidad de las perlas, impactando así en el contenido de fibra soluble (4.54 %). Sin embargo, ambos productos tienen baja cantidad de fibra (~0.76 y 1.74 g/100g de producto, PCL y COM, respectivamente).

Los valores reportados para fibra dietaria empleando el método gravimétrico-enzimático representan la masa del residuo seco total. Cabe señalar que, en el análisis de residuos indigeribles, la literatura reporta que el residuo puede retener remanentes de cenizas, entre el 1 y el 3 %, y proteínas residuales (resistentes a la proteasa o provenientes del complejo enzimático) que puede abarcar del 2 al 10 % del peso del residuo, dependiendo del método y de la naturaleza de la matriz analizada (Tebbe *et al.*, 2017). Por ende, los valores de fibra presentados podrían reflejar una ligera sobreestimación debido a que reflejan el residuo gravimétrico seco.

VI.3 Caracterización nutracéutica

El análisis de compuestos bioactivos revela que la HCP es, consistentemente, la fuente más rica en todos los fitoquímicos evaluados (fenoles totales, flavonoides, melanoidinas y fito-melatonina), presentando valores significativamente superiores en cada caso. De acuerdo con Ansari *et al.* (2023), dependiendo del estado de madurez del plátano, este puede tener desde 7.71 hasta 30.0 mg EAG/g de fenoles totales. Por lo que, la determinación en la experimentación de 15.51 ± 0.45 mg EAG/g (**Figura 11A**) está en el rango mencionado por los autores. Los flavonoides son compuestos que también depende del estado de madurez del fruto, se determinó un total de 4.38 ± 0.13 mg ER/g (**Figura 11B**) y según el estudio de Putri *et al.* (2023) la cantidad total de flavonoides en la cáscara de plátano puede ir desde 2.48 mg ER/g hasta 3.35 mg ER/g.

Al comparar las PCL y las COM mostraron contenidos de flavonoides y fito-melatonina significativamente diferentes. En el caso de los flavonoides, las COM tuvieron valores superiores, con 0.34 ± 0.01 mg ER/g, mientras que las PCL 0.24 ± 0.01 mg ER/g. Sin embargo, Kitchen & Williamson (2024) sugieren que la presencia de melanoidinas en la formulación de un producto puede interferir en la cuantificación de flavonoides. Con respecto a la cuantificación de melanoidinas, las COM presentaron una mayor concentración (2.07 ± 0.09 mg eq. de caramelo/g) que las PCL (0.90 ± 0.05 mg/g) (**Figura 11C**). Esta cantidad de melanoidinas en las COM se puede atribuir al contenido de azúcares reductores (250 mg/100 g de perlas); ya que, durante la caramelización se involucra la condensación de azúcares reductores, como glucosa o fructosa, lo que los transforma en caramelo (Hadisoewignyo & Prasetyo, 2023). Por lo tanto, la cantidad de

azúcares reductores está directamente relacionada con la cantidad de melanoidinas que se pudieran formar en el alimento, como se reporta en este trabajo (**Cuadro 10**).

La cantidad de fito-melatonina encontrada en la cáscara de plátano fue de 28.24 mg/g de muestra seca (**Figura 11D**), mientras que Moreno (2024) reportó 10.62 mg/g en esta misma matriz. Aunque no se encontraron estudios que previamente hayan evaluado la cantidad de fito-melatonina en esta matriz, las variaciones se atribuyen a factores ambientales y genéticos. La HCP en menos de 0.5 g contiene la dosis recomendada de melatonina para adultos, que es de 1 a 10 mg/día, siendo de 2 a 4 mg/día el rango con mayor evidencia para promover la calidad de sueño, disminuir los despertares en la noche y aumentar el tiempo total de sueño (Cruz-Sanabria *et al.*, 2024), lo que sugiere su potencial para ser incorporada como ingrediente en la formulación de productos que se enfoquen en estos beneficios.

Por otro lado, las PCL presentaron una mayor cantidad de este compuesto (3.55 ± 0.12 mg eq. de melatonina/g) indicando que la HCP contribuyó con la fito-melatonina a la matriz de las PCL y que en el proceso de cocción el compuesto fue termorresistente, dado que se pudo cuantificar el compuesto después de la elaboración de las perlas. En un estudio realizado por Patil *et al.* (2020), donde evaluaron la estabilidad de la melatonina en jugos de frutas, se determinó que la degradación cinética de esta molécula en solución tiene una dependencia térmica. Ya que, el incremento en la constante de velocidad (k), la velocidad en la que ocurre el proceso de degradación aumentaba un 17 % al elevar la temperatura de 60 a 90 °C. Sin embargo, si se pudo cuantificar melatonina en las PCL después de la cocción (80 – 90 °C), confirmando su termorresistencia dentro de matrices complejas como el almidón de yuca y la cáscara de plátano. Sin embargo, es importante mencionar que la cantidad de fito-melatonina determinada en las perlas, no es proporcional a la cantidad de HCP adicionada a la formulación, sugiriendo que otros componentes de las perlas están limitando su cuantificación y/o que, una cantidad de este compuesto fue afectado en el proceso de cocción.

Por lo tanto, al consumir una porción de la bebida, conteniendo 18 g de PCL, el producto proporciona 16.58 mg eq. de melatonina/porción de perlas.

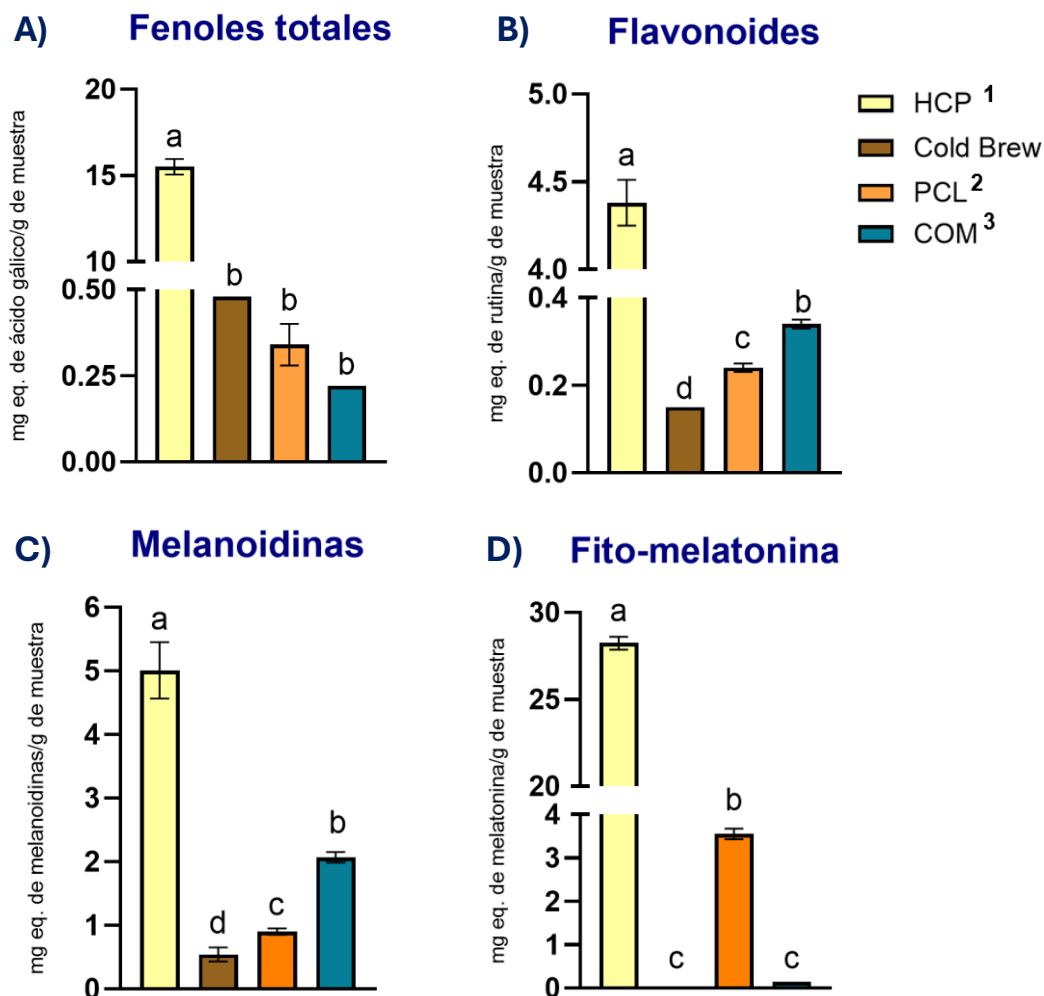


Figura 11. Composición nutracéutica de la HCP, Cold Brew, PCL y COM

¹Harina de cáscara de plátano. ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH. ³Perlas comerciales. Los valores se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. A) Fenoles totales. B) Flavonoides. C) Melanoidinas. D) Fito-melatonina. Las letras indican diferencia significativa entre muestras (Tukey para diferenciar medias, $p < 0.05$).

Por su parte, la composición nutracéutica del Cold Brew a base de pulpa de café resultó tener una menor cantidad de compuestos bioactivos (con excepción de los compuestos fenólicos), esto debido a que es una infusión en frío de la pulpa de café y no una bebida concentrada del ingrediente. Los compuestos mayoritarios fueron los fenoles

totales con 0.48 ± 0.00 mg EAG/mL y melanoidinas con 0.52 ± 0.11 mg equivalentes de caramelo/mL de la bebida.

La cantidad de flavonoides en una bebida infusionada de café tienden a disminuir conforme pasan los días de su almacenamiento. Sin embargo, la cantidad de fenoles totales, flavonoides y antocianinas puede estabilizarse con un bajo pH en el sistema. Tal como reporta Patil *et al.* (2021) donde se determinó que una bebida infusionada de pulpa de café, adicionada de azúcar y jugo de limón, en el día 0 (pH = 5.4) la bebida contaba con 0.60 mg ER/mL de flavonoides, mientras que en el día 30, la bebida tenía un total de 0.56 mg ER/mL (pH = 5.0). Los autores reportan que, al disminuirle aún más el pH, a 4.6 desde el día 0, los cambios de estos compuestos nutraceuticos durante el almacenamiento eran despreciables. Por lo que el control de pH de la bebida puede ser una estrategia para preservar este tipo de compuestos.

VI.3.1 Compuestos bioactivos por HPLC-DAD

En diversos estudios se ha demostrado que la cáscara de plátano constituye una matriz rica en compuestos nutraceuticos y bioactivos. Esto mismo se observó en la cuantificación de compuestos fenolicos por HPLC (**Cuadro 11**), donde la cáscara de plátano fue la muestra con mayor número y concentración de compuestos detectados. Entre ellos, la catequina, la cianidina y la epicatequina fueron los de mayor abundancia (214.88 ± 15.65 , 150.31 ± 6.03 y 25.33 ± 1.43 µg/g, respectivamente), mientras que en el Cold Brew, el compuesto predominante fue la epicatequina con 456.87 ± 0.00 µg/mL.

En el estudio realizado por Shini *et al.* (2024), se identificaron los principales compuestos fenolicos en la cáscara de plátano; la concentración de catequina osciló entre 26.00 ± 0.01 y 347 ± 0.00 µg/g. No obstante, otros autores han reportado valores considerablemente mayores, alcanzando más de 3,000 µg de catequina/g. Estos resultados sugieren que el contenido de polifenoles depende en gran medida de la variedad del fruto, las condiciones climáticas y el estado de madurez. En el mismo estudio, la concentración de ácidos clorogénicos fue notablemente menor que la obtenida en este trabajo (14.13 µg/g) , con valores entre 0.50 y 4.70 µg/g. En cambio, la cantidad

de epicatequina fue mayor a la de este trabajo, situándose en un rango de 56.31 a 291.50 $\mu\text{g/g}$.

La gran variabilidad en el contenido de compuestos bioactivos de la cáscara de plátano se atribuye principalmente al grado de madurez del fruto; siendo que las cáscaras verdes y maduras suelen presentar mayores niveles de ácido gálico y catequina que las cáscaras sobre maduras (Khacharat *et al.*, 2022).

Cuadro 11. Compuestos bioactivos detectados por HPLC-DAD ($\mu\text{g/g}$).

Compuesto	HCP ¹	CB ²	PCL ³	COM ⁴
Trigonelina	2.6 ± 0.06^a	0.8 ± 0.01^c	1.1 ± 0.03^b	0.64 ± 0.03^d
Ác. Shiquímico	5.3 ± 0.49^b	2.6 ± 0.24^c	7.5 ± 0.19^a	< LOD
Hidroxifenilacetico	5.3 ± 0.00^b	59.5 ± 1.94^a	< LOD	< LOD
Ác. Sinápico	1.3 ± 0.05^a	0.80 ± 0.02^b	0.3 ± 0.02^c	0.4 ± 0.03^c
Ác. Gálico	1.2 ± 0.02^b	20.5 ± 0.17^a	< LOD	< LOD
Dihidroxi benzoico	22.4 ± 0.58^b	49.7 ± 0.41^a	1.9 ± 0.00^c	< LOD
Cafeína	< LOD	2.1 ± 0.03	< LOD	< LOD
Catequina	214.9 ± 15.65^a	23.7 ± 0.16^b	15.9 ± 0.29^b	0.99 ± 0.03^c
Epicatequina	25.3 ± 1.43^b	456.9 ± 0.23^a	7.6 ± 0.00^c	< LOD
Galato de Epigallocatequina	0.13 ± 0.00^a	0.03 ± 0.00^a	< LOD	< LOD
Ác. Vainílico	2.2 ± 0.00	< LOD	< LOD	< LOD
Hidroxibenzoico	9.9 ± 0.09^a	0.80 ± 0.04^b	< LOD	< LOD
Ác. Cumárico	0.85 ± 0.01^c	< LOD	1.5 ± 0.04^b	2.3 ± 0.04^a
Ác. Clorogénicos	14.1 ± 0.04^b	66.4 ± 0.49^a	1.9 ± 0.00^c	< LOD
Ác. Cafeico	1.4 ± 0.00^a	1.4 ± 0.09^a	< LOD	< LOD
Ác. Ferúlico	3.1 ± 0.33	< LOD	< LOD	< LOD
Dihidroxicinámico	7.7 ± 0.14^a	3.2 ± 0.11^b	< LOD	< LOD
Rutina	2.3 ± 0.45^b	26.7 ± 0.39^a	< LOD	< LOD
Quercetina	11.1 ± 0.36	< LOD	< LOD	< LOD
Cianidina	150.3 ± 6.03	< LOD	< LOD	< LOD
Delfinidina	3.4 ± 0.19	< LOD	< LOD	< LOD
L-teanina	< LOD	< LOD	18000.79 ± 0.75	< LOD

Total	484.75 ± 16.85	715.11 ± 2.12	18038.56 ± 0.35	4.31 ± 0.07
--------------	-----------------------	----------------------	------------------------	--------------------

¹Harina de cáscara de plátano (µg/g). ²Cold Brew (µg/mL). ³Perlas de almidón de tapioca con cáscara de plátano y LTH (µg/g). ⁴Perlas comerciales (µg/g). Los valores se presentan como la media ± DE. < LD: debajo del Límite de Detección. Las letras indican diferencias significativas por renglón entre muestras de acuerdo con el ANOVA de una vía después de la prueba post-hot Tukey (p < 0.05).

Por otro lado, la cantidad de compuestos bioactivos en el Cold Brew elaborado a partir de pulpa de café presentó menor número de compuestos fenólicos (comparado con la HCP, pero mayor que las perlas) debido a que esta bebida corresponde a una infusión en frío y, por tanto, es menos concentrada que las preparaciones calientes.

En el estudio de Martín-Trueba *et al.* (2025), donde se caracterizó una infusión caliente de pulpa de café, se determinó un rango de 23.5 ± 2.0 a 192.3 ± 5.5 µg/mL de ácidos clorogénicos, mientras que en el presente trabajo se cuantificó un total de 66.37 ± 0.49 µg/mL, valor que se encuentra dentro del rango reportado por los autores, a pesar de las diferencias en las condiciones de infusión. Del mismo modo, reportaron concentraciones de fenoles totales entre 0.18 ± 0.00 y 1.75 ± 0.06 mg/mL, mientras que en el Cold Brew se obtuvieron 0.48 ± 0.00 mg de fenoles/mL.

En contraste, la concentración de cafeína fue considerablemente menor en el Cold Brew (2.09 ± 0.03 µg/mL), frente a los valores reportados por Martín-Trueba *et al.* (111.9 ± 0.1 a 654.2 ± 0.1 µg/mL). Los autores atribuyen esta cantidad de cafeína en su bebida a variables del proceso de extracción, señalando que la cantidad de este compuesto puede incrementarse mediante mayores relaciones sólido:líquido (0.08 g/mL), tamaños de partícula más grandes (4–5 mm) y tiempos de infusión prolongados (9 min).

De acuerdo con la Academia Americana de Psiquiatría del Niño y del Adolescente (AACAP), Canada Health y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA) los niños y adolescentes menores de 18 años no deben consumir más de 100 mg/día de cafeína, o 2.5 mg/kg/día y 3.0 mg/kg/día, respectivamente (Jessel *et al.*, 2023). Por lo tanto, si se considera una porción de 60 mL del Cold Brew a base de pulpa de café, se tendrían aproximadamente 0.125 mg de cafeína en la bebida, siendo así esta bebida segura para consumo en menores. Del mismo modo, en México, la Secretaría de Salud establece que las bebidas saborizadas no alcohólicas no deben superar los 20 mg de

cafeína por cada 100 mL. En contraste, el Cold Brew contiene únicamente 0.2 mg/100 mL. Esta concentración además de estar por debajo del límite regulatorio equivale a la cantidad de cafeína de los productos clasificados como «té sin cafeína» (0 a 0.2 mg/100 mL) (PROFECO, 2021).

Con respecto a las perlas, se observa que las PCL presentan una mayor diversidad y concentración de compuestos fenólicos en comparación con las COM. Ya que, en las primeras se detectaron ocho compuestos, mientras que en las segundas únicamente se identificó ácido cumárico ($2.28 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$) y trazas de catequina ($0.99 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$), trigonelina ($0.64 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$) y ác. sinápico ($0.40 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$), lo que evidencia una mayor riqueza fitoquímica en las perlas desarrolladas. Entre los compuestos más abundantes en las PCL destacaron la catequina ($15.95 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$) y la epicatequina ($7.57 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$). Se puede observar que los compuestos detectados en las PCL son algunos de los cuantificados en la HCP, lo que indica que estos se encuentran en las perlas principalmente por la cáscara de plátano.

El análisis del contenido de LTH mediante HPLC reveló una concentración final de 84 mg por porción de 18 g. Esta cifra difiere de los 200 mg incorporados originalmente, lo que equivale a una disminución del 58 %. Esta variación sugiere que una porción del compuesto pudo haber experimentado degradación durante el procesamiento de calentamiento, o bien, haber interactuado con otros componentes en la matriz, limitando su cuantificación. Sin embargo, se ha demostrado que en dosis de 50-100 mg se ha visto mejoría en la calidad de sueño en adultos sanos, dado que en el estudio de Tominaga *et al.* (2022) el tiempo en la etapa 2 de la fase no REM aumentó en estas dosis. Esta etapa, aunque es parte del “sueño ligero”, está involucrada en la disminución del ritmo cardíaco y temperatura corporal, por lo que además de estar vinculada con el estado de relajación cerebral, demuestra tener un efecto en la calidad de sueño. No obstante, el ritmo de vida de cada individuo afectó en estos resultados, ya que aquellos participantes que sufrían de ansiedad crónica no tuvieron efectos bajo estas dosis.

VI.4 Capacidad antioxidante

De igual forma, la capacidad antioxidante en productos agrícolas como la cáscara de plátano y la pulpa de café pueden variar debido a factores genéticos y ambientales (Ansari *et al.*, 2023). Cuando el plátano tiene poca maduración, o esta sobre madurado, cuenta con una menor capacidad antioxidante; por lo que, se ha determinado que entre las etapas 4 y 7, ya que de acuerdo con la escala de Von Loesecke son las mejores para tener una cáscara con mayor cantidad de compuestos bioactivos (Vu *et al.*, 2018). En este trabajo, se eligieron plátanos de la variedad *Musa spp.* correspondientes a la etapa 5.

Los tres ensayos para medir la capacidad antioxidante de las muestras fueron DPPH, ORAC y QUENCHER. El método de DPPH se basa en la eliminación de radicales libres estables como el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) por el antioxidante en prueba; la técnica de ORAC se basa en la eliminación de radicales de vida corta por mecanismos de competencia, como los radicales peróxido en el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, por lo que se asemeja más a un sistema biológico, y el método QUENCHER mide la capacidad antioxidante al poner en contacto directo la muestra pulverizada con los radicales libres en solución, permitiendo que los antioxidantes reaccionen sin necesidad de una extracción previa (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2022). Sin embargo, Kopjar *et al.* (2015) mencionan que el tamaño de partícula, el tipo de muestra y la presencia de compuestos fenólicos ligados o atrapados afectan la eficiencia de QUENCHER.

En la **Figura 12** se observa que la HCP presenta la mayor capacidad antioxidante determinada por los tres mecanismos. Las PCL ($1.45 \pm 0.16 \mu\text{mol ET/g}$) mostraron una mejor capacidad antioxidante en la prueba DPPH que COM ($0.39 \pm 0.03 \mu\text{mol Eq. Trolox/g}$), lo que podría deberse a la retención de compuestos fenólicos que actúan por transferencia de electrones. Ya que, según correlaciones de Pearson, se sugiere que la capacidad antioxidante en el ensayo de DPPH proviene principalmente de fenoles totales ($r=0.903$) y melanoidinas ($r=0.984$). Sin embargo, las PCL y COM tuvieron el mismo resultado en el ensayo ORAC ($0.08 \pm 0.00 \mu\text{mol Eq. Trolox/g}$) y capacidades significativamente iguales en QUENCHER (925.29 ± 31.81 y $1008.22 \pm 76.87 \mu\text{mol/g}$,

respectivamente). La capacidad antioxidante de las COM, de acuerdo con correlaciones de Pearson, se puede deber a la cantidad de melanoidinas producidas en las reacciones de Maillard entre los azúcares reductores y los aminoácidos disponibles en la matriz de las perlas (ORAC: $r=0.934$, QUENCHER: $r=0.948$) (Hadisoewignyo & Prasetyo, 2023).

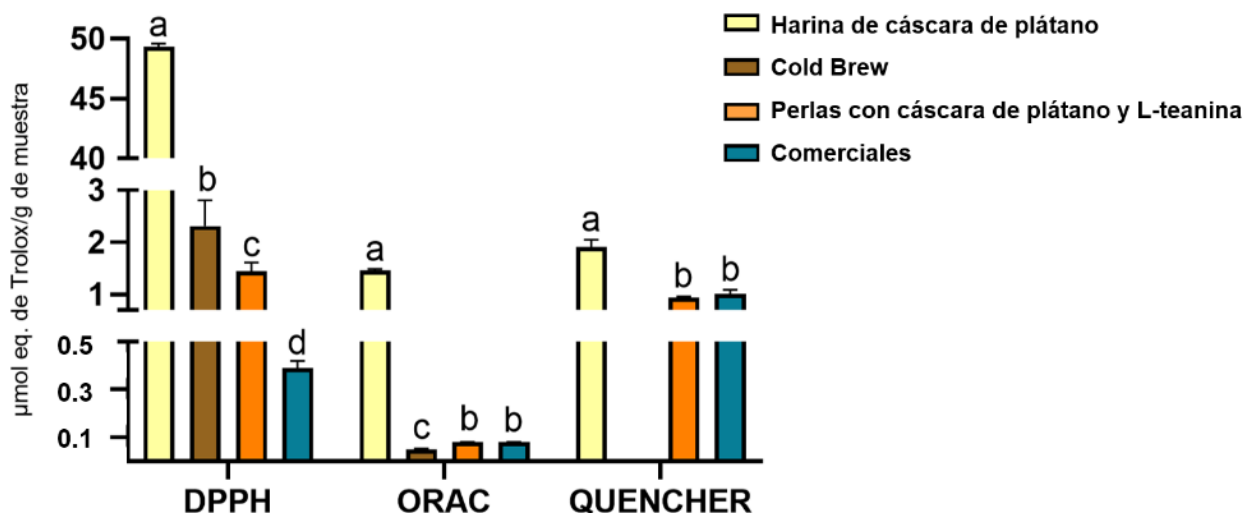


Figura 12. Capacidad antioxidante de la HCP, Cold Brew, PCL y COM

¹Harina de cáscara de plátano (HCP). ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH (PCL). ³Perlas comerciales (COM). Los valores se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. Las letras indican diferencia significativa entre muestras (Tukey para diferenciar medias, $p<0.05$).

Es importante resaltar que los resultados de capacidad antioxidante difieren debido a los distintos mecanismos de cada ensayo, dado que no todos permiten una cuantificación total de los compuestos, ni de su potencial antioxidante completo. En consecuencia, estas variaciones subrayan la importancia de utilizar múltiples ensayos para caracterizar adecuadamente matrices alimentarias complejas.

VI.4.1 Correlación entre capacidad antioxidante y compuestos fenólicos

Harina de cáscara de plátano

En el **Cuadro 12** se observan las correlaciones entre los ensayos de capacidad antioxidante y los compuestos detectados en la HCP. La capacidad antioxidante en DPPH, ORAC y QUENCHER mostraron correlaciones fuertes entre sí, indicando que los tres ensayos capturan el mismo fenómeno antioxidante. Es decir, la matriz cuenta con

antioxidantes que actúan por varios mecanismos como transferencia de electrones o “radical scavenging”, cuando la molécula dona un átomo de hidrógeno o un electrón para neutralizar al radical libre (Gulcin & Akwasel, 2023).

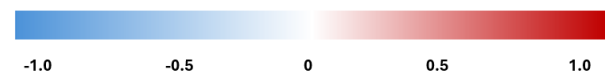
Los fenoles totales y flavonoides fueron los compuestos que mayor impacto tuvieron en la capacidad antioxidante, dado que tuvieron una correlación significativa en los tres ensayos. Se ha demostrado que la capacidad antioxidante de estos compuestos fenólicos en alimentos de origen vegetal depende principalmente de su estructura química (como el número y la posición de los grupos hidroxilo) y de su concentración en la matriz del alimento. Ya que, una estructura molecular específica y una mayor concentración de estos compuestos en un alimento vegetal aumentan su potencial para combatir el daño oxidativo celular (Kumar *et al.*, 2023). La fitomelatonina, una indolamina, y el ácido shiquímico fueron los compuestos con gran participación en el ensayo de QUENCHER, teniendo una correlación de $R = 0.89$ y 0.80 , respectivamente. Las melanoidinas por su parte fueron las moléculas de mayor afinidad en esta prueba ($R = 0.96$); que, aunque no se clasifican como un compuesto fenólico, si cuentan con capacidad antioxidante. Durante las reacciones de Maillard se producen las melanoidinas que capturan polifenoles en su estructura, como por ejemplo los ácidos clorogénicos, atribuyéndoles capacidad antioxidante. Kitchen & Williamson (2024) mencionan que, por lo general, cuando se tienen matrices vegetales, las melanoidinas y los polifenoles coexisten, por lo tanto, interaccionan frecuentemente hasta conseguir estas estructuras.

La fito-melatonina mostró correlaciones significativas con los métodos antioxidantes basados en transferencia de electrones: DPPH ($R = 0.92$) y QUENCHER ($R = 0.89$), así como con el contenido de fenoles totales y flavonoides, 0.947 y 0.925 respectivamente. Sugiriendo que su presencia en la cáscara de plátano no actúa de manera aislada, sino como parte de un sistema antioxidante general, actuando de forma conjunta con el conglomerado de polifenoles en la muestra. Kukula-Koch *et al.* (2021) mencionan que la fito-melatonina hace sinergia en presencia de otros compuestos con propiedades antioxidantes, aumentando de este modo el efecto antioxidante en el sistema.

Cuadro 12. Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de la HCP.

	DPPH	ORAC	QUENCHER	Fenoles totales	Flavonoides	Melanoidinas	Fito-melatonina	Trigonelina	Ác. Shiquímico	Hidroxifenilacetico	Ác. Sinápico	Ác. Gálico	Dihidroxilbenzoico	Catequina	Epicatequina	Hidroxibenzoico	Ác. Clorogénicos	Ác. Ferúlico	Dihidroxicinámico	Quercetina
ORAC	0.898*																			
QUENCHER	0.839*	0.918*																		
Fenoles totales	0.962*	0.917*	0.923*																	
Flavonoides	0.971*	0.893*	0.868*	0.920*																
Melanoidinas	0.792	0.906*	0.961*	0.831*	0.875*															
Fito-melatonina	0.924*	0.795	0.892*	0.947*	0.925*	0.617														
Trigonelina	-0.02	-0.166	-0.035	-0.157	0.181	0.154	0.111													
Ác. Shiquímico	0.646	0.754	0.802*	0.738	0.654	0.748	0.697	-0.054												
Hidroxifenilacetico	-0.35	-0.061	-0.134	-0.179	-0.467	-0.247	-0.403	-0.769	0.191											
Ác. Sinápico	-0.24	-0.122	-0.353	-0.185	-0.43	-0.478	-0.452	-0.898*	-0.263	0.724										
Ác. Gálico	-0.12	-0.103	0.22	-0.045	0.057	0.29	0.199	0.687	0.319	-0.272	-0.835*									
Dihidroxilbenzoico	0.766	0.008	0.768	0.086	-0.281	-0.296	-0.13	-0.751	0.077	0.793	0.654	-0.569								
Catequina	0.903*	0.376	0.904*	-0.499	0.825*	-0.16	-0.33	0.823*	-0.484	-0.645	-0.529	0.286	0.768							
Epicatequina	0.738	0.143	0.715	-0.151	0.749	-0.479	-0.399	0.935*	-0.231	0.75	0.984*	-0.769	0.921*	-0.631						
Hidroxibenzoico	0.162	0.079	0.285	0.102	0.366	0.433	0.362	0.726	0.272	-0.665	-0.788	0.852*	-0.875*	0.581	-0.988*					
Ác. Clorogénicos	0.883*	0.868*	0.526	0.854*	0.255	0.646	0.631	0.439	0.35	-0.657	-0.462	-0.04	-0.562	0.328	-0.553	0.444				
Ác. Ferúlico	0.154	-0.023	0.173	0.066	0.333	0.298	0.351	0.946*	0.193	-0.732	-0.965*	0.794	-0.847*	0.595	0.959*	0.973*	0.444			
Dihidroxicinámico	0.645	0.509	0.484	0.478	0.781	0.636	0.608	0.712	0.316	-0.801	-0.742	0.29	-0.789	0.509	-0.811	0.728	0.935*	0.723		
Quercetina	0.138	-0.049	0.142	0.037	0.321	0.276	0.326	0.964*	0.113	-0.785	-0.964*	0.763	-0.882	0.65	0.964*	0.966*	0.457	0.995*	0.737	
Cianidina	-0.09	0.138	-0.081	-0.026	-0.23	-0.147	-0.321	-0.860*	-0.21	0.624	0.880*	-0.788	0.684	-0.458	0.847*	-0.890*	-0.297	-0.961*	-0.575	-0.940*

*Indican correlación significativa a un nivel $p < 0.05$.



En cuanto a los demás compuestos bioactivos, la catequina contribuyó también en ambos métodos (DPPH y QUENCHER), mientras que el ácido shiquímico y los ácidos clorogénicos mostraron una actividad más específica: el primero en el método QUENCHER y los últimos en DPPH y ORAC.

En el mismo cuadro se puede identificar una correlación alta entre el ácido ferúlico, la quercetina y la epicatequina ($R > 0.94$). Sin embargo, este grupo no mostró correlación significativa con la capacidad antioxidante en los tres ensayos ($R < 0.20$). Lo que sugiere que en la cáscara de plátano estos compuestos están vinculados a funciones estructurales o ligados a la pared celular por medio de enlaces covalentes (Younes *et al.*, 2023). Aunque se puede conservar parte importante de su actividad antioxidante *in vitro*, Zhong *et al.* (2022) han reportado que se puede limitar la disponibilidad inmediata de estos fenoles para actuar como antioxidantes libres, ya que su liberación depende de procesos como la hidrólisis enzimática o tratamientos físicos y químicos que rompen la matriz celular.

Cold Brew (CB)

Se observó una correlación fuerte ($R > 0.9$) entre la capacidad antioxidante obtenida con los dos métodos utilizados en el Cold Brew (DPPH y ORAC) y cuatro grupos principales: fenoles totales, flavonoides (especialmente epicatequina), melanoidinas y ácidos clorogénicos (**Cuadro 13**). Esto sugiere que la capacidad antioxidante de la bebida no depende de un solo compuesto, sino de la sinergia entre los fenoles y flavonoides que están presentes en la pulpa del fruto de café; así como con las melanoidinas formadas durante el secado o tostado, en reacciones de Maillard (Hadisoewignyo & Prasetyo, 2023).

La epicatequina fue el compuesto con mayor impacto en la capacidad antioxidante de la bebida teniendo correlaciones de 0.964 y 0.982 para DPPH y ORAC, respectivamente, lo cual se esperaba dado que fue el compuesto de mayor abundancia en la bebida con una media de $456.87 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$. De este modo, los flavonoides tuvieron una correlación positiva ($R = 0.974$) con las melanoidinas, sugiriendo que durante el procesamiento del Cold Brew (secado de la pulpa o en la extracción) estos se unen por enlaces glucosídicos o éster a las melanoidinas formando compuestos con

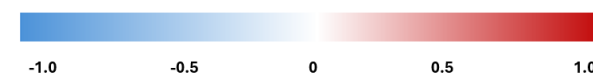
capacidad antioxidante. Siendo que los flavonoides, que se encuentran en la matriz del alimento, se liberan durante el procesamiento térmico, aumentando su disponibilidad de reaccionar y unirse a la estructura principal de las melanoidinas (Salazar-Mardones *et al.*, 2025). Se ha sugerido que los compuestos fenólicos unidos se pueden liberar antes de la absorción o bien metabolizarse por la microbiota intestinal y ejercer su bioactividad.

Por otro lado, los ácidos clorogénicos mostraron de igual forma una correlación fuerte con la capacidad antioxidante evidenciada por los ensayos ($R > 0.82$), confirmando que a pesar de solamente usar la pulpa de café y no solo el grano se conservan compuestos bioactivos presentes de la cereza completa de café. Del mismo modo, esta correlación valida la eficiencia del método de extracción utilizado, donde las condiciones de maceración en frío permitieron la solubilización simultánea de compuestos de distintos pesos moleculares (desde el más chico como la epicatequina hasta los más grandes como melanoidinas) sin que se produjera una degradación competitiva entre ellos (Martín-Trueba *et al.*, 2025).

Cuadro 13. Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de la bebida Cold Brew.

	DPPH	ORAC	Fenoles totales	Flavonoides	Melanoidinas	Trigonelina	Ác. Shiquímico	Hidroxiifenilacético	Ác. Sinápico	Ác. Gálico	Dihidroxilbenzoico	Cafeína	Catequina	Epicatequina	Ác. Clorogénicos	Ác. Cafeico	Dihidroxicinámico
ORAC	0.939*																
Fenoles totales	0.980*	0.941*															
Flavonoides	0.834*	0.881*	0.858*														
Melanoidinas	0.860*	0.875*	0.847*	0.974*													
Trigonelina	0.524	0.266	0.481	0.247	0.242												
Ác. Shiquímico	-0.139	0.145	0.706	0.272	0.267	-0.844*											
Hidroxiifenilacético	-0.006	0.319	0.04	0.385	0.33	-0.722	0.942										
Ác. Sinápico	0.16	0.002	0.101	-0.046	0.139	-0.104	-0.009	-0.275									
Ác. Gálico	0.296	0.374	0.945*	0.737	0.635	0.115	0.352	0.434	-0.43								
Dihidroxilbenzoico	0.129	0.273	0.123	0.256	0.359	-0.7	0.762	0.6	0.601	-0.045							
Cafeína	0.062	0.232	0.205	0.542	0.414	-0.333	0.608	0.63	-0.29	0.804	0.261						
Catequina	0.418	0.458	0.422	0.803*	0.773	0.158	0.361	0.396	-0.21	0.943*	0.092	0.646					
Epicatequina	0.964*	0.982*	0.172	0.897*	0.891*	0.327	0.073	0.217	0.094	0.387	0.264	0.271	0.462				
Ác. Clorogénicos	0.937*	0.827*	0.900*	0.846*	0.866*	0.686	-0.236	-0.11	0.046	0.479	-0.077	0.09	0.608	0.859*			
Ác. Cafeico	0.417	0.202	0.393	0.119	0.972	0.961*	-0.877*	-0.697	-0.3	0.033	-0.824*	-0.363	0.008	0.239	0.552		
Dihidroxicinámico	-0.604	-0.411	-0.537	-0.121	-0.723	-0.601	0.198	0.249	-0.27	-0.535	0.042	-0.102	-0.723	-0.482	-0.802*	-0.371	
Rutina	0.29	0.008	0.253	-0.384	-0.116	0.910*	-0.987*	-0.904*	0.004	-0.266	-0.737	-0.568	-0.255	0.078	0.385	0.926*	-0.301

*Indica correlación significativa a un nivel de $p < 0.05$



Perlas desarrolladas

Los ácidos clorogénicos mostraron hacer sinergia estructural con los flavonoides (principalmente epicatequina), melanoidinas y fenoles totales; por lo que, en vez de antagonizarse, estos metabolitos se integraron, resultando en un sistema antioxidante más robusto que por separado. Es decir, se sugiere que en función de la integración de ingredientes como la HCP o la L-TH las concentraciones de todos estos metabolitos se incrementaron de manera simultánea y proporcional (Erskine *et al.*, 2022).

Por otro lado, se puede observar que en la **Cuadro 14** se muestran las correlaciones de los compuestos encontrados en las perlas desarrolladas (PCL). La capacidad antioxidante de las perlas está dominada por la fracción fenólica total y por los flavonoides, dado que estos tuvieron correlaciones significativas con la capacidad antioxidante observada en los ensayos de DPPH y QUENCHER ($R > 0.87$). Sugiriendo que se conserva la actividad de estos compuestos incluso después del procesamiento de las perlas y dentro de la matriz. Los fenoles totales ($r=0.903$) y melanoidinas ($r=0.984$) fueron los compuestos que mayor correlación tuvieron con DPPH. Las melanoidinas al predominar principalmente en la superficie de las perlas por su insolubilidad y agregación hacen que sean las más reactivas a DPPH comparándolas con los compuestos fenólicos, que tienen menor peso molecular (Hadisoewignyo & Prasetyo, 2023). Del mismo modo, la fortificación con LTH otorgó una ventaja tecnológica al favorecer la formación de melanoidinas con capacidad antioxidante. Esto se debe a que este aminoácido actúa como un donador de grupos amino libres que, al interactuar con los azúcares reductores bajo las altas temperaturas de la cocción, se aceleran las reacciones de Maillard. Como resultado, se generan estas melanoidinas capaces de estabilizar radicales libres, incrementando así la capacidad antioxidante frente al radical DPPH (Wang *et al.*, 2024).

Los compuestos fenólicos, como los flavonoides, interaccionan constantemente con componentes dentro de la matriz del alimento como la fibra dietaria o el almidón. Estas interacciones producidas por enlaces covalentes (no reversibles) y no covalentes (reversibles) modifican la bioaccesibilidad y bioactividad de los compuestos en cuestión, cuando se tiene una mayor fracción de fibras se potencia la disminución de la bioaccesibilidad de los polifenoles (Rocchetti *et al.*, 2022). Por lo tanto, se puede inferir

que la fibra proveniente de la cáscara de plátano y el almidón de la tapioca crearon una red que atrapó los flavonoides y los fenoles totales. De tal modo, que cuando se mide el sólido directo (QUENCHER), se encuentra una correlación alta entre estos compuestos y la capacidad antioxidante de este ensayo ($R > 0.87$).

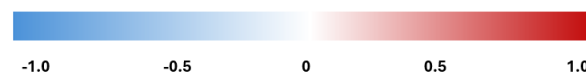
Se observó una correlación alta entre la fito-melatonina y catequina con la capacidad antioxidante determinada por el método ORAC ($R = 0.927$ y 0.802 , respectivamente), lo que sugiere que estos compuestos desempeñan un papel central en la actividad antioxidante de las perlas elaboradas. La cáscara de plátano adicionada a las perlas se caracteriza por un perfil fenólico rico en ambos, dado que en el análisis por HPLC se encontraron $214.9 \mu\text{g}$ de catequinas/g de cáscara deshidratada y 28.24 mg de fito-melatonina/g por espectrofotometría. Lo que explicaría la fuente de estos compuestos en las perlas adjudicándole la capacidad antioxidante en ORAC. Debido a que este método evalúa específicamente la capacidad de neutralización de radicales peroxilo ($\text{ROO}\cdot$), los resultados sugieren que la catequina es una de las principales moléculas responsables de esta función antioxidante en la matriz de las perlas (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2022).

Del mismo modo, se observó un agrupamiento o “clúster” de compuestos que mostraron comportamiento codependiente, teniendo correlaciones $R > 0.83$, conformado por el ácido shiquímico, el dihidroxilbenzoico y la catequina, junto con la epicatequina. Este comportamiento sugiere que este grupo de ácidos fenólicos y flavonoides monoméricos tienen el tamaño y la polaridad adecuada (alta densidad de los hidroxilos) para interactuar con el almidón de las perlas. Hu *et al.* (2025) mencionan que este tipo de compuestos al tener estas características permite formar fuertes conexiones de puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo en las moléculas de almidón de cadena lineal. Esto en consecuencia ayuda a aumentar la resistencia del almidón a la degradación enzimática y mejorar la estabilidad térmica del complejo.

Cuadro 14. Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de las PCL.

	DPPH	QUENCHER	ORAC	Fenoles totales	Flavonoides	Melanoidinas	Fito-melatonina	Trigonelina	Ác. shiquímico	Dihidroxilbenzoico	Catequina	Epicatequina	Ác. Cumárico
QUENCHER	0.780*												
ORAC	0.850*	0.895*											
Fenoles totales	0.903*	0.877*	0.855*										
Flavonoides	0.895*	0.915*	0.881*	0.996*									
Melanoidinas	0.984*	0.687	0.757	0.843*	0.826*								
Fito-melatonina	0.703	0.849*	0.927*	0.810*	0.841*	0.59							
Trigonelina	0.217	0.642	0.511	0.597	0.624	0.082	0.666						
Ác. Shiquímico	0.413	0.52	0.652	0.404	0.446	0.344	0.810*	0.304					
Dihidroxilbenzoico	-0.081	-0.005	0.139	-0.128	-0.094	-0.095	0.368	-0.028	0.831*				
Catequina	0.667	0.615	0.802*	0.565	0.594	0.637	0.804*	0.199	0.875*	0.612			
Epicatequina	0.463	0.347	0.183	0.404	0.396	0.477	0.241	-0.056	0.26	0.086	0.124		
Ác. Cumárico	-0.53	-0.448	-0.296	-0.355	-0.37	-0.546	-0.232	0.206	-0.272	-0.059	-0.239	-0.896	
Ác. Clorogénicos	0.903*	0.854*	0.884*	0.976*	0.775	0.841*	0.883*	0.562	0.573	0.073	0.686	0.447	-0.38

*Indica correlación significativa a un nivel de $p < 0.05$



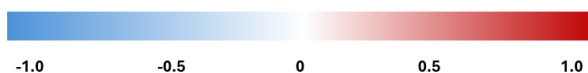
Perlas comerciales

Las perlas comerciales (COM) cuentan con un perfil fenólico completamente distinto a las desarrolladas (**Cuadro 15**). La incorporación de caramelo a las perlas de tapioca modificó significativamente el perfil de correlación antioxidante, haciendo notar que este aditivo cumple una función bioactiva más allá de la coloración. Al ser perlas con caramelo en su formulación se introducen melanoidinas de manera exógena por el proceso de pardeamiento por medio de las relaciones de Maillard y de caramelización, las cuales tienen la capacidad de donar electrones siendo el único compuestos con una correlación significativa con el método DPPH ($R = 0.87$) (Hadisoewignyo & Prasetyo, 2023). Por lo tanto, la capacidad antioxidante de las COM se podría atribuir principalmente al contenido de melanoidinas en su matriz siendo que para los ensayos de ORAC y QUENCHER las correlaciones fueron significativas ($r=0.934$ y 0.948 , respectivamente). Sin embargo, los fenoles totales y los flavonoides también mostraron correlación con la capacidad antioxidante.

Cuadro 15. Análisis de correlación de Pearson entre la capacidad antioxidante y los compuestos de las COM.

	DPPH	QUENCHER	ORAC	Fenoles totales	Flavonoides	Melanoidinas	Trigonelina	Ác. Sinápico	Catequina
QUENCHER	0.739								
ORAC	0.806	0.994							
Fenoles totales	0.023	0.233	0.203						
Flavonoides	0.392	0.836	0.808	0.419					
Melanoidinas	0.72	0.948*	0.934*	0.303	0.674				
Trigonelina	0.685	0.993*	0.981*	0.163	0.855	0.920*			
Ác. Sinápico	0.193	0.061	0.089	-0.957	-0.174	-0.029	0.131		
Catequina	0.503	0.029	0.08	0.018	-0.46	0.27	-0.063	-0.02	
Ác. Cumárico	0.401	0.565	0.568	0.833	0.749	0.49	0.511	-0.684	-0.123

*Indica correlación significativa a un nivel de $p < 0.05$



VI.5 Caracterización física y química

Se caracterizaron física y químicamente las bebidas Cold Brew (CB), Cold Brew adicionada con las PCL (CB+PCL) y Cold Brew adicionada con las COM (CB+COM) (**Figura 13**) mediante mediciones estáticas (pH y acidez titulable) y una evaluación cinética a lo largo de 60 minutos (0, 15, 30 y 60 min) para los sólidos solubles (°Brix) y los Sólidos Disueltos Totales (SDT).

Los parámetros físicos y químicos basales revelaron que la incorporación de PCL al CB no modificó el pH (~4.7) ni la acidez titulable (3.2 g equivalentes de ácidos clorogénicos/L) en comparación con el CB. Este comportamiento sugiere una encapsulación de los compuestos en el interior de la matriz de las perlas, limitando su difusión inmediata hacia el medio. En contraste, la muestra CB+COM presentó un desplazamiento significativo, caracterizado por un pH más elevado (4.9) y una acidez titulable inferior (2.2 g/L). Este fenómeno puede atribuirse a la composición química del recubrimiento COM, el cual contiene jarabe de azúcar y pectinas. La pectina es un polímero polianiónico rico en residuos de ácido galacturónico, cuyos grupos carboxilo modifican su estado de protonación en medios ácidos. De este modo, la pectina puede consumir parte de la acidez libre del medio al convertir grupos COO^- en COOH , lo que reduce ligeramente la actividad de los iones hidronio y, en consecuencia, provocar un pequeño aumento del pH medido (Feng *et al.*, 2025). Asimismo, la menor acidez titulable observada sugiere una interferencia por parte de la matriz, por la difusión de solutos. El jarabe de COM introduce una alta concentración de azúcares exógenos a la fase continua, lo que podría alterar la disponibilidad efectiva de los ácidos orgánicos nativos durante la titulación, disminuyendo así la acidez titulable determinada (Liu *et al.*, 2026).

Por otro lado, el cambio del contenido de sólidos solubles en las bebidas con respecto al tiempo se observa en la **Figura 13A**. Las tres muestras muestran un incremento a lo largo del tiempo, lo que sugiere la disolución de azúcares, siendo cada °Brix 1 g de azúcar en 100 g de solución o 1 % de azúcar. Por lo tanto, la concentración de azúcar en una muestra está directamente relacionada con la densidad de esta (Jaywant *et al.*, 2022). La muestra de CB+COM es la que mostró mayor liberación de azúcar a través del tiempo, lo cual era de esperarse por el contenido de azúcar en la formulación de las

COM. Mientras que, las PCL y el CB tuvieron los mismo niveles de °Brix debido a que ninguna de las dos muestras tiene azúcar añadida en su formulación.

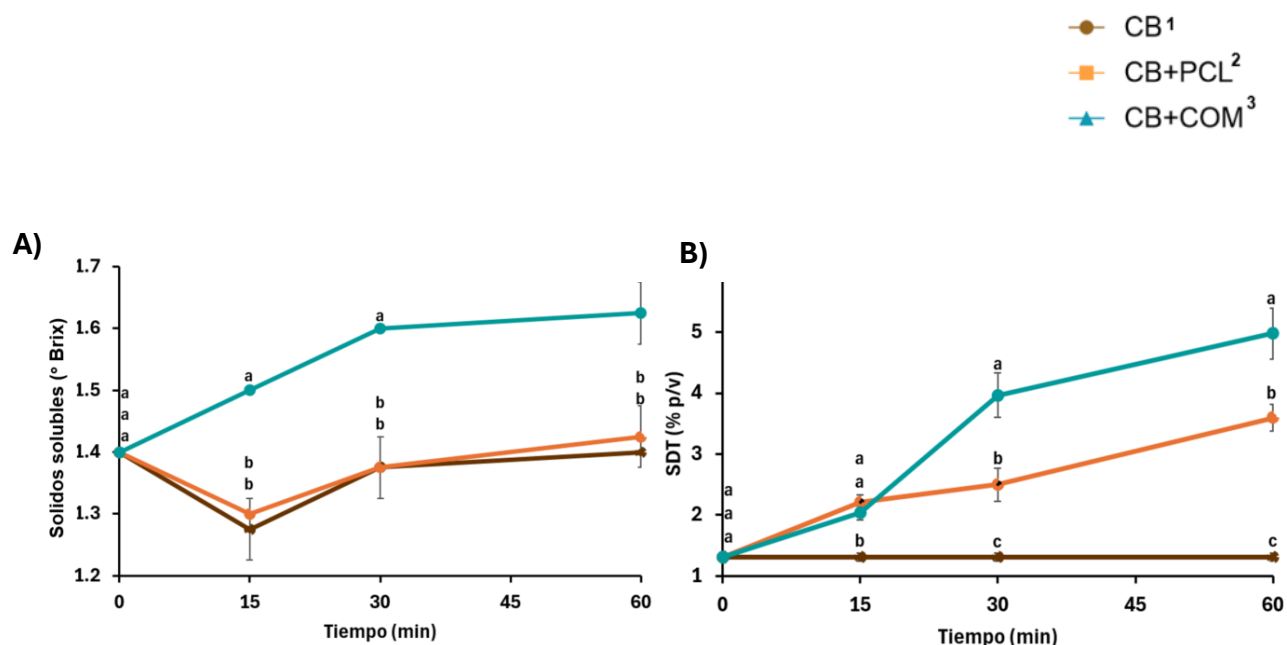


Figura 13. Caracterización fisicoquímica de las bebidas

A) Cambio el nivel de sólidos solubles (°Brix) en las bebidas. **B)** Cambio en la concentración de sólidos disueltos totales (SDT) de las bebidas. Las letras indican diferencia significativa entre muestras por cada tiempo (Tukey para diferenciar medias, $p < 0.05$). ¹Cold Brew. ²CB + Perlas desarrolladas. ³CB + Perlas comerciales.

Finalmente, este mismo comportamiento se puede observar en la **Figura 13B** donde se muestra la cantidad de sólidos disueltos totales (SDT) en las bebidas. Aunque las tres formulaciones se separan claramente a medida que avanza el tiempo, nuevamente el CB+COM fue la muestra con mayor cantidad de SDT. Mientras que, el CB+PCL muestra un incremento intermedio, terminando alrededor del 3.5 %; y el CB se mantiene con el valor más bajo y constante a lo largo de todo el proceso.

VI.6 Evaluación sensorial

La aceptabilidad y preferencia de las perlas desarrolladas fue evaluada mediante dos pruebas sensoriales: una escala hedónica de 9 puntos y una prueba de preferencia. En la evaluación se incluyeron tres tipos de muestras: las perlas desarrolladas (PCL), las perlas desarrolladas sumergidas en jarabe de sacarosa al 50 % (PCL con jarabe) y las perlas comerciales (COM) (**Figura 14**). El propósito de incluir las PCL con jarabe fue determinar si la preferencia de los panelistas se inclinaba naturalmente hacia la muestra con mayor dulzor (la comercial). De esta manera, su incorporación permitió una comparación equiparando las condiciones de dulzor entre las muestras desarrolladas y la de referencia comercial.



A) PCL¹

B) PCL con jarabe²

C) COM³

Figura 14. Muestras de perlas de tapioca utilizadas en la evaluación sensorial

¹Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH. ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH inmersas en jarabe de sacarosa al 50 %. ³Perlas comerciales.

Las tres muestras fueron aceptadas sensorialmente con puntuaciones entre 6 y 8 para todos los indicadores que se evaluaron (apariencia, color, gusto general, sabor y textura), siendo las PCL con jarabe las de mayor gusto general por parte de los consumidores (**Figura 15**). Estas perlas presentaron la mayor aceptación en sabor, alcanzando una puntuación de 8.02, superaron en un 10 % a las PCL y en un 15 % a las COM. En cuanto a la textura, las PCL con jarabe obtuvieron una puntuación ~6 % superior a la de las otras dos muestras. Mientras que las PCL sin azúcar estuvieron evaluadas en un punto intermedio en ambas características teniendo alrededor de 5 % mayor aceptabilidad que las COM. Sin embargo, el 23 % de los evaluadores determinó

el color como el principal parámetro a mejorar por no ser tan oscuras como COM, las cuales tuvieron la mayor puntuación en esta variable, una puntuación de 6 % superior.

Cabe destacar que, la presencia del endulzante parece ser determinante en el sabor evidenciando y/o confirmando la habituación que los mexicanos tienen hacia el sabor dulce (The Food Tech, 2024).

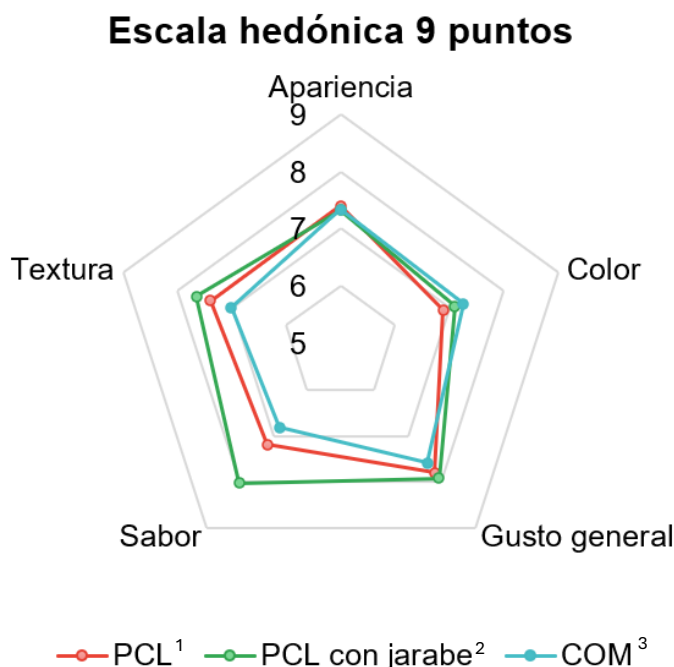


Figura 15. Respuestas de escala hedónica de 9 puntos.

¹Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH. ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH con jarabe al 50 %. ³Perlas comerciales.

Finalmente, la **Figura 16** muestra la proporción de la preferencia de las muestras. Las PCL con jarabe mostraron el mayor valor con 69 % de preferencia, mientras que las PCL y las COM no mostraron diferencia significativa entre ellas. Recordemos que las COM se encuentra disueltas en un jarabe con algún endulzante añadido, mientras que PCL no tiene azúcares añadidos. Por lo tanto, la formulación de las PCL incluso sin endulzantes es igualmente preferida que COM, e incluso puede superar la preferencia a las COM si se le añade algún ingrediente que intensifique el sabor dulce de las perlas. Como se mencionó anteriormente, la preferencia hacia las muestras dulces es un factor

determinante, dado que el consumidor habitual se inclina mayormente hacia estos sabores, siendo percibido también como una señal de alimentos ricos en energía. Este vínculo fisiológico y psicológico entre el sabor dulce y el placer es un estímulo que libera dopamina, reforzando la sensación de bienestar (The Food Tech, 2024).

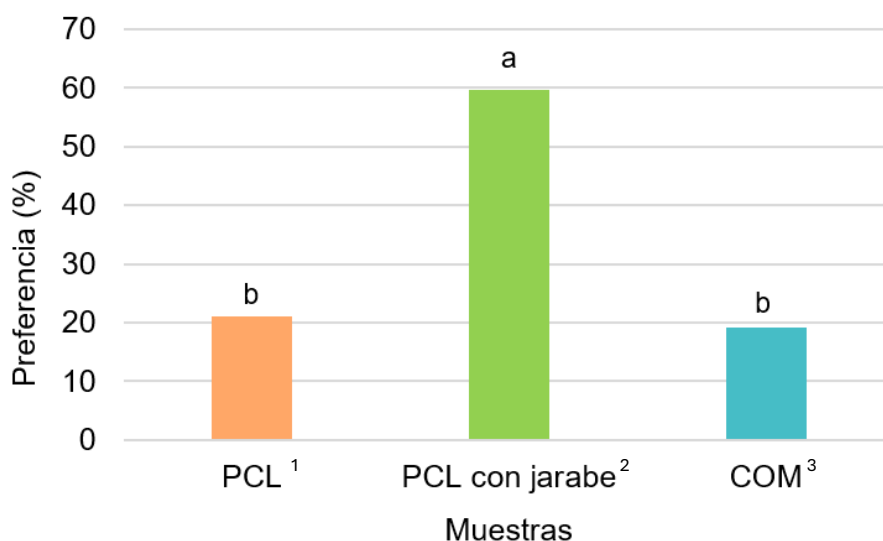


Figura 16. Proporción de la preferencia entre muestras.

¹Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH. ²Perlas desarrolladas de tapioca con cáscara de plátano y LTH azucaradas. ³Perlas comerciales. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras (prueba de chi-cuadrada de bondad de ajuste con comparaciones por pares y corrección de Bonferroni, $p < 0.0167$).

VI.7 Pruebas ansiolíticas en peces cebra

Se hicieron dos pruebas principales para medir el efecto ansiolítico con respecto al comportamiento de cada uno de los tratamiento evaluados: como controles negativos, aquellos peces que solo recibieron su alimento habitual (CTRL) y la formula base de las perlas de tapioca (BASE), las perlas desarrolladas (PCL), y tres controles positivos: L-teanina (LTH) (9 mg/200 mL), melatonina (MEL) (0.32 mg/200 mL) y LTH+MEL. Estos tratamientos se evaluaron en dos pruebas: 1) Luz y oscuridad y 2) Novel Tank, en las cuales se analizaron cinco variables principales, a) el número total de transiciones entre compartimientos, b) la latencia en cruzar por primera vez al lado oscuro o a la parte

superior (seg), c) el tiempo total en el lado iluminado o superior (seg), d) el número total de episodios de congelación y e) el tiempo que estos duraron (seg) (da Silva *et al.*, 2025).

VI.7.1 Prueba de luz/oscuridad

En la **Figura 17** se muestra el efecto ansiolítico de los diferentes tratamientos sobre el comportamiento de los peces cebras en la prueba de luz/oscuridad. Durante esta prueba se estudió la aversión al área iluminada, así como al comportamiento exploratorio espontáneo como índices de ansiedad. El pez cebra tiene una preferencia natural por los ambientes oscuros (escototaxis) como mecanismo de defensa; por lo tanto, se espera que sustancias con efectos ansiolíticos incrementen su latencia al lado oscuro, así como la exploración en este lado. Esto es debido, a que los peces como respuesta de protección tratan de camuflarse en el ambiente oscuro (Sabadin *et al.*, 2022).

Con respecto al porcentaje de peces que hicieron al menos una transición al lado oscuro (**Figura 17A**), se identificó que prácticamente todos los peces de cada tratamiento exploraron ambas áreas, a excepción de LTH. El 80 % de los peces de este grupo exploró el lado oscuro, mientras que el 20 % restante se quedó los 360 seg de la prueba en el lado iluminado; observando el primer posible efecto ansiolítico de este compuesto al mitigar los efectos producidos por estrés agudo y desordenes de ansiedad. Se ha reportado que LTH modula la neurotransmisión glutamatérgica al unirse a los receptores del glutamato sin activarlos, bloqueando la unión del ácido glutámico; de este modo se disminuye la sobreexcitación neuronal y el estrés, sin causar somnolencia (da Silva *et al.*, 2025).

El número total de transiciones entre compartimentos refleja la actividad locomotora y exploratoria (**Figura 17B**). Aunque el CTRL, representativo de la exploración basal bajo estrés, no mostró diferencias significativas con PCL y LTH, se observa que MEL y la combinación LTH+MEL redujeron el número de cruces ($p < 0.01$), con respecto a los controles negativos (CTRL y BASE). Esto sugiere que la MEL es el compuesto que está aportando un efecto neuromodulador más sedante o relajante que frena el nado constante de un lado a otro, un comportamiento congruente con reportes previos sobre su capacidad para inducir sedación y reducir la actividad locomotora (Azpeleta *et al.*,

2024). Este efecto inhibitorio se efectúa sobre la actividad glutamatérgica en cerebro; específicamente, la MEL se une a calmodulina inhibiendo a la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), reduciendo así la cantidad de óxido nítrico (ON) disponible para estimular la liberación de glutamato. La disminución de esta liberación reduce la activación de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y por ende, la sobreexcitación cerebral; en cambio, un aumento de la liberación de glutamato tendría el efecto opuesto, potenciando la transmisión excitatoria (Aranda-Martínez *et al.*, 2022). MEL ejerce su efecto ansiolítico y sedante a través de la activación de los receptores específicos MT₁ y MT₂ (Repova *et al.*, 2022).

Por otro lado, el tiempo que tomó a los peces hacer el primer cruce al lado oscuro (latencia) (**Figura 17C**) fue mayor para los tratamientos LTH y PCL en comparación con CTRL y BASE. Considerando que a una mayor latencia por entrar al lado oscuro hay menor aversión al ambiente iluminado, se infiere que la LTH fue el compuesto dominante que confirió el efecto ansiolítico tanto a PCL como a la mezcla de LTH+MEL. El tratamiento con MEL fue significativo, pero menor, concordando con sus diferencias mecanísticas; mientras que MEL ejerce inhibición indirecta de la activación NMDA (vía nNOS/NO), la LTH actúa como análogo estructural del glutamato, ejerciendo antagonismo competitivo directo sobre los receptores NMDA y AMPA, bloqueando de manera inmediata la entrada de señales excitatorias (da Silva *et al.*, 2025; Aranda-Martínez *et al.*, 2022).

El tiempo total que pasaron los peces en la luz (**Figura 17D**) refleja el efecto ansiolítico sostenido a través del tiempo, complementando esta interpretación de mecanismos. Ya que, el tratamiento LTH+MEL logró el mayor tiempo de permanencia en la luz, que junto con LTH mostró similitud con PCL; mientras que MEL y los controles negativos fueron similares. En conjunto, este patrón confirma una complementariedad para el potencial relajante de las PCL, siendo que la tolerancia inicial al estrés por la luz provino principalmente por LTH, mientras que la MEL moduló la frecuencia de exploración.

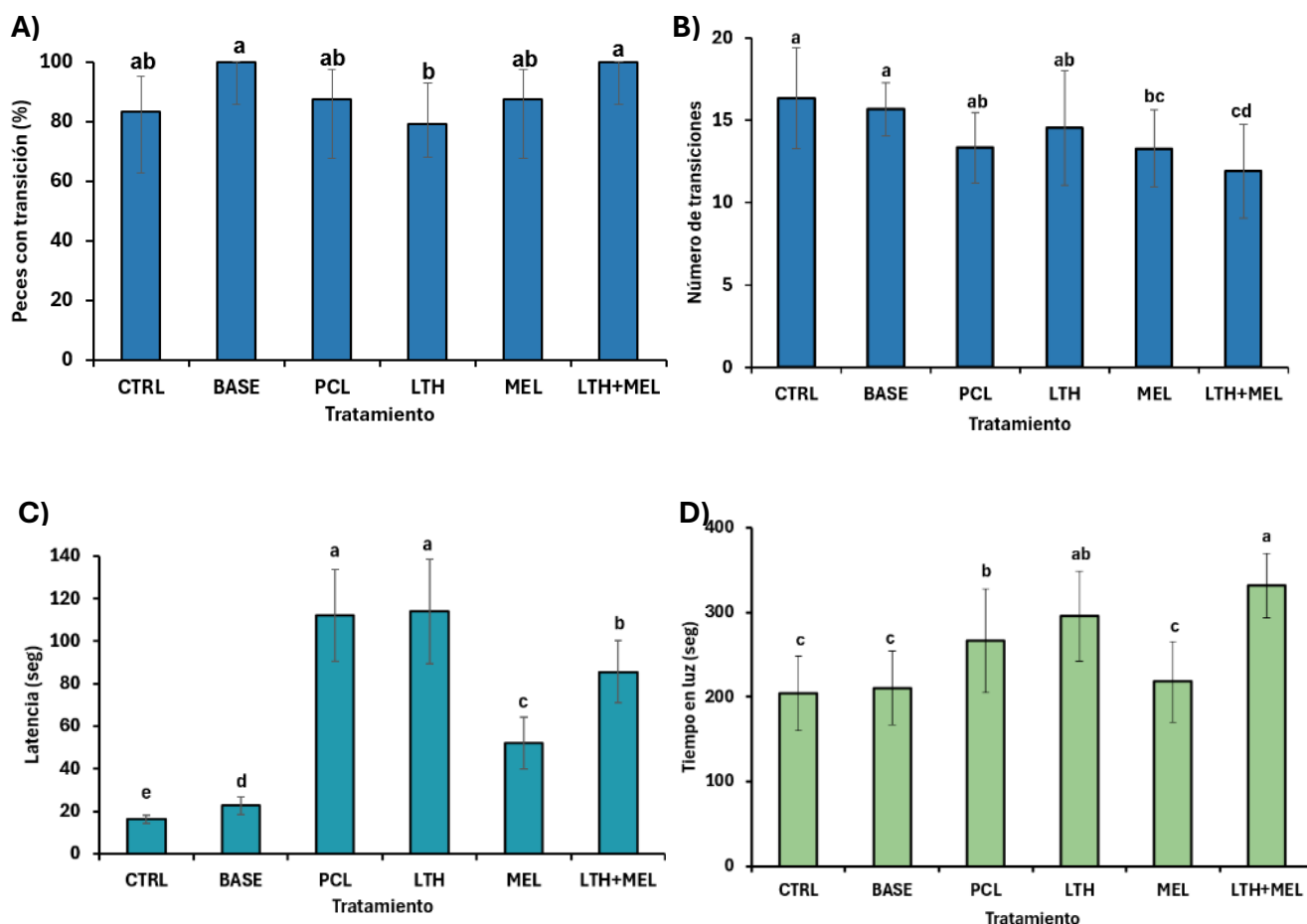


Figura 17. Comportamiento exploratorio y preferencia luz/oscuridad de los peces

A) Proporción porcentual de peces que ingresaron al compartimento oscuro durante la prueba (360 seg). Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante una prueba de Chi-cuadrada seguido de una prueba post-hoc mediante el método Benjamini-Hochberg, $p < 0.05$. **B)** Número total de transiciones entre compartimentos. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA seguido de la prueba post-hoc de Tukey, $p < 0.05$). **C)** Latencia de tiempo (seg) para el primer ingreso al lado oscuro. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA de Welch seguido de la prueba post-hoc de Games-Howell, $p < 0.05$). **D)** Tiempo (seg) de los peces en el compartimento con luz. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA seguido de la prueba post-hoc de Tukey, $p < 0.05$). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre los tratamientos. CTRL: Control negativo. BASE: Grupo de perlas de almidón sin cáscara de plátano ni LTH. PCL: Grupo de perlas de almidón de tapioca con cáscara de plátano y LTH. LTH: Grupo de 9 mg de LTH/200 mL. MEL: Grupo de 0.32 mg de MEL/200 mL. LTH+MEL: Grupo de 9 mg de LTH + 0.32 mg de MEL/200 mL.

La proporción porcentual de peces libres de “episodios de congelación”, cuando el pez deja de moverse en su totalidad a excepción de los ojos y las branquias, se observa en la **Figura 18A**. Aunque los tratamientos de PCL y LTH+MEL fueron los únicos en los

que más del 80 % de los peces no tuvieron episodios de congelación, no hubo diferencia significativa con los demás tratamientos ($p > 0.05$). De igual forma, la distribución de reincidencias (**Figura 18B**) fue estadísticamente homogénea, predominando de manera general una ocurrencia de un solo episodio por pez en la mayoría de los tratamientos.

Por el contrario, la duración de estos episodios (**Figura 18C**) si reveló diferencias significativas, permitiendo sugerir los mecanismos ansiolíticos de los compuestos. Es importante considerar que en farmacología conductual de peces cebras, el comportamiento de congelación es un biomarcador dual: puede representar una respuesta de parálisis por miedo o ansiedad, o bien reflejar un efecto sedante e inhibitorio, inducido por una sobredosis (Cueto-Escobedo *et al.*, 2022).

El grupo tratado con LTH tuvo tiempos similares al grupo BASE (~40 seg), al integrar este dato con los mayores tiempos de latencia a la oscuridad y permanencia en la luz, se podría sugerir que este compuesto ejerce un efecto ansiolítico, reduciendo la excitación inducida por el estrés agudo, pero sin sedar por completo al animal, permitiéndole mantener su actividad locomotora. Este perfil funcional se conservó en las PCL, estabilizando la inmovilidad en ~60 segundos. Sin embargo, la administración de MEL, aislada o combinada (LTH+MEL) incrementó los tiempos significativamente (110 y 100 seg, respectivamente); evidenciando su perfil sedante e inductor al reposo y confirmando la diferencia en las vías neurofisiológicas (da Silva *et al.*, 2025; Aranda-Martínez *et al.*, 2022).

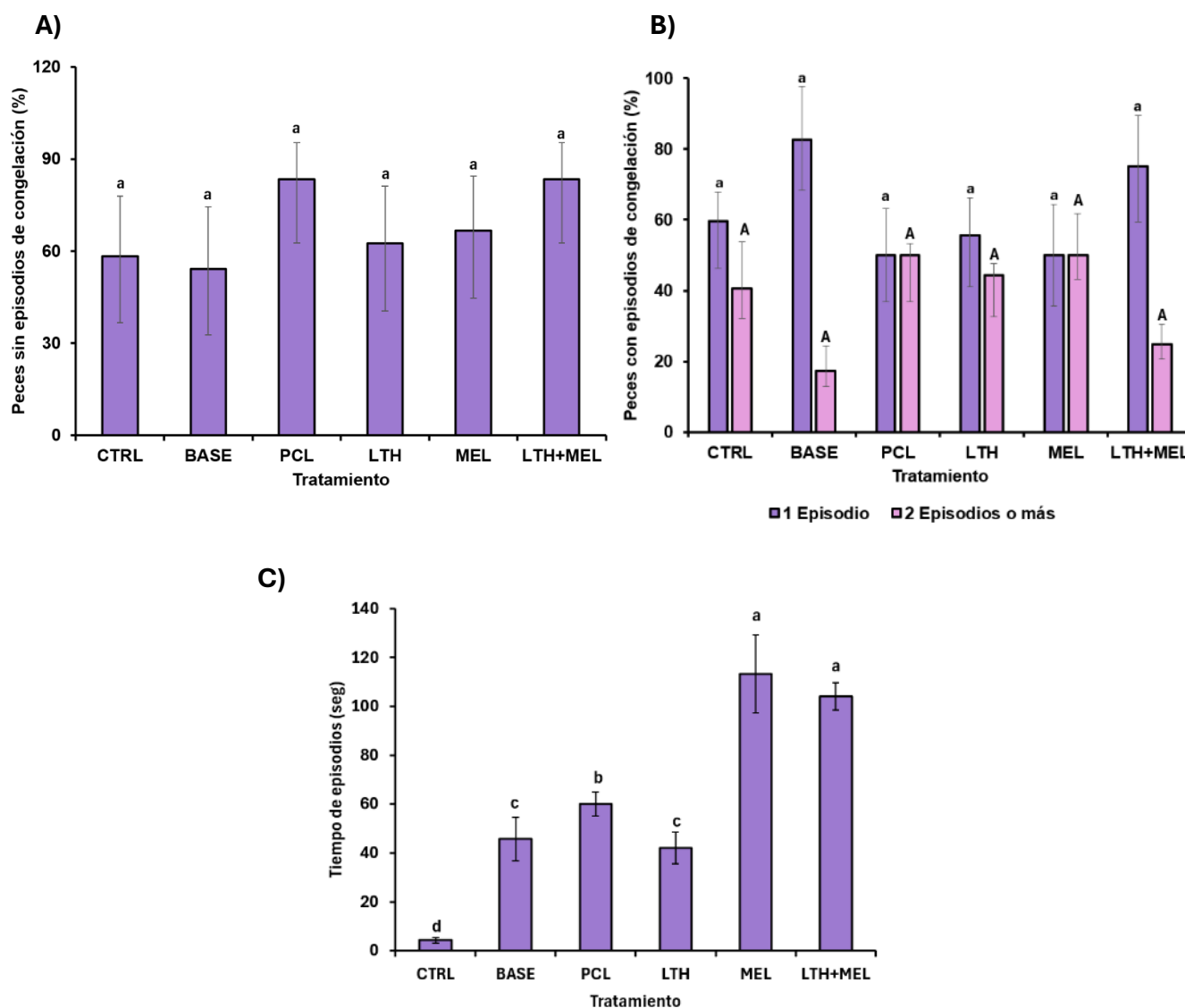


Figura 18. Episodios de congelación de los peces en la prueba de luz/oscuridad

A) Proporción porcentual de peces que no tuvieron episodios de congelación durante la prueba (360 seg). Los datos se presentan como la proporción $\pm$ IC 95% (Prueba de Chi-cuadrada, $p < 0.05$). **B)** Distribución porcentual del número de episodios de congelación (1 y 2 o más episodios) observados durante el ensayo. Las frecuencias relativas se calcularon por episodio entre tratamiento, tomando como el 100% únicamente a los peces que presentaron episodios. Los datos se presentan como la proporción $\pm$ IC 95% (Prueba de Chi-cuadrada, $p < 0.05$). **C)** Tiempo (seg) de los episodios de congelación por tratamiento. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA de Welch seguido de la prueba post-hoc de Games-Howell, $p < 0.05$). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. BASE: Grupo de perlas de almidón sin cáscara de plátano ni LTH. PCL: Grupo de perlas de almidón de tapioca con cáscara de plátano y LTH. LTH: Grupo de 9 mg de LTH/200 mL. MEL: Grupo de 0.32 mg de MEL/200 mL. LTH+MEL: Grupo de 9 mg de LTH + 0.32 mg de MEL/200 mL.

VI.7.2 Prueba de Novel Tank

Como segunda prueba para analizar la actividad locomotora y exploratoria de los peces en un nuevo ambiente se usó la prueba de Novel Tank, dado que esta prueba se basa principalmente en el comportamiento instintivo por buscar protección cuando se encuentran en un ambiente nuevo. Es decir, buscan la parte inferior del tanque, en un estado de ansiedad o estrés, hasta que se sienten lo suficientemente seguros para explorar la parte superior. Por lo tanto, cuando están bajo un efecto ansiolítico la latencia a la parte superior disminuye e incrementa la exploración en ella (Cueto-Escobedo *et al.*, 2022).

En contraste con la prueba de luz/oscuridad, en este ensayo el 100 % de los peces tuvieron al menos una transición al lado superior, demostrando que ningún pez permaneció refugiado en el fondo durante la totalidad de la prueba. Al analizar el número total de cruces (**Figura 19A**), los resultados demuestran que tanto los compuestos aislados (LTH, MEL) como el tratamiento combinando ambas (LTH+MEL) y las perlas desarrolladas (PCL) poseen capacidades ansiolíticas estadísticamente equiparables en cuanto a su efecto sobre la exploración espacial, registrando entre 11 y 13 transiciones por prueba.

Sin embargo, si se distinguieron diferencias con respecto a la latencia para cruzar al lado superior (**Figura 19B**). Es importante destacar que a diferencia de la prueba de luz/oscuridad, en este modelo una mayor latencia es indicativo de un mayor nivel de ansiedad en los peces, ya que refleja cuanto tarda el pez en cruzar al lado superior y explorarlo (da Silva *et al.*, 2025). En este sentido, el grupo CTRL y BASE mostraron tener latencias más prolongadas, alrededor de 2 min, evidenciando una fuerte respuesta instintiva de miedo y ansiedad aguda ante la novedad espacial; mientras que MEL y LTH+MEL fueron lo que tardaron menos en hacer este primer acercamiento al disminuir esta latencia prácticamente a la mitad (~50-55 seg) y PCL y LTH mostraron niveles similares entre sí. Esto sugiere que la MEL actúa más rápido para desinhibir el comportamiento de buceo; este comportamiento de buceo profundo, conocido como geotaxis, es la respuesta instintiva de miedo y ansiedad aguda en modelos de pez cebra expuestos a ambientes novedosos (Burbano *et al.*, 2023).

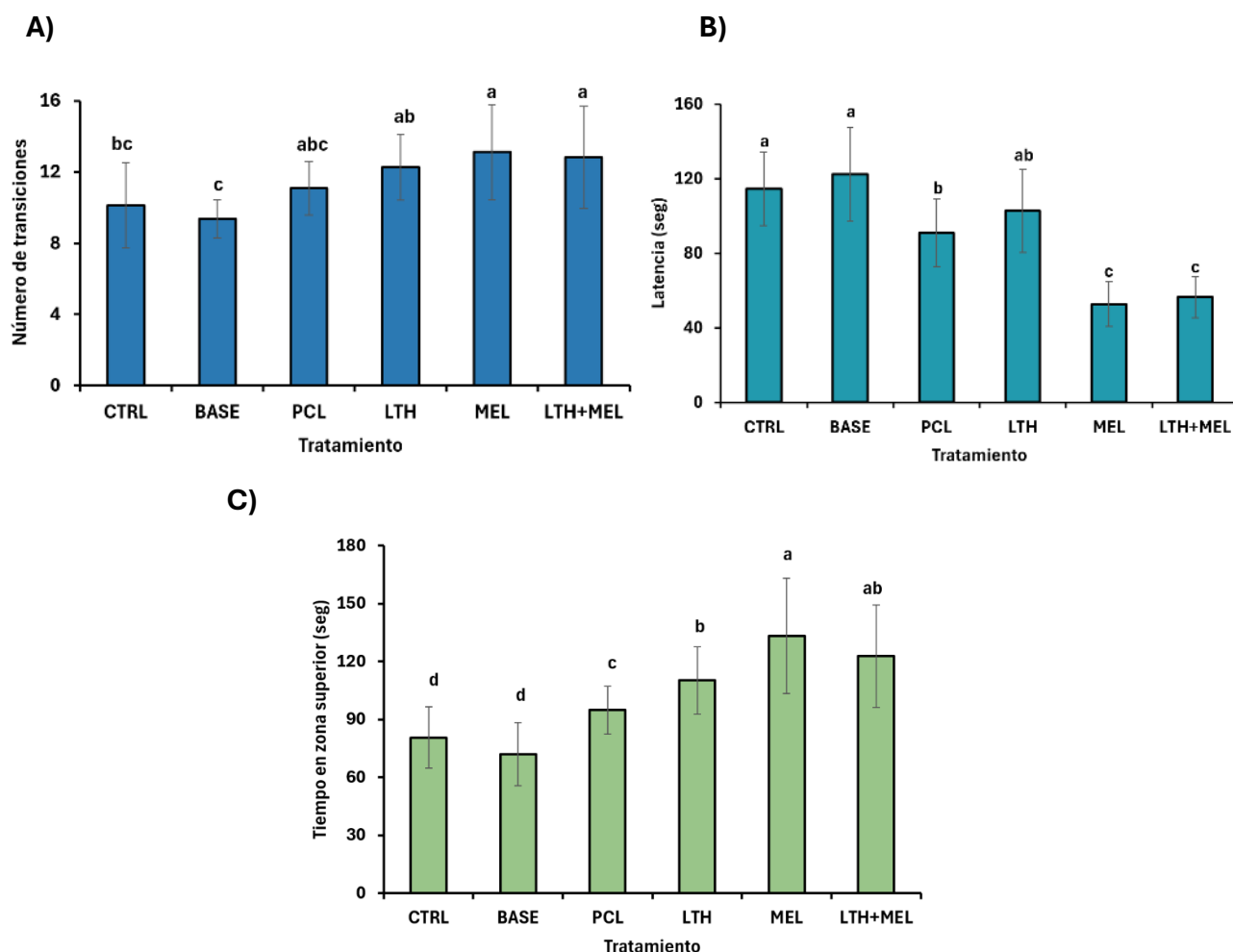


Figura 19. Comportamiento exploratorio y preferencia en la prueba Novel Tank.

A) Número total de transiciones entre compartimentos durante la prueba (360 seg). **B)** Latencia de tiempo (seg) para el primer ingreso al lado superior. **C)** Tiempo (seg) de los peces en la zona superior. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA seguido de la prueba post-hoc de Tukey, $p < 0.05$). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. BASE: Grupo de perlas de almidón sin cáscara de plátano ni LTH. PCL: Grupo de perlas de almidón de tapioca con cáscara de plátano y LTH. LTH: Grupo de 9 mg de LTH/200 mL. MEL: Grupo de 0.32 mg de MEL/200 mL. LTH+MEL: Grupo de 9 mg de LTH + 0.32 mg de MEL/200 mL.

De acuerdo con la **Figura 19C**, donde se muestra el tiempo total que pasaron los peces en la zona superior, el grupo CTRL y BASE pasaron un tiempo significativamente menor en esta área (~50-70 seg), un marcado comportamiento geotáctico, el cual es una medida validada de ansiedad donde una mayor geotaxis indica niveles superiores de

estrés (Burbano *et al.*, 2023). En contraste, la administración de los compuestos bioactivos mitigó esta respuesta de evasión, siendo que MEL y la combinación LTH+MEL exhibieron los tiempos más prolongados en esta zona (130 ± 29.84 y 122 ± 26.58 , respectivamente), casi duplicando el tiempo de exploración con respecto al CTRL. Este efecto ansiolítico concuerda con investigaciones previas que documentan cómo la melatonina, además de su función cronobiótica, ejerce actividad neuromoduladora al desinhibir la exploración en espacios nuevos. En el modelo de pez cebra, la melatonina actúa como señal anti-estrés mediante la regulación del sistema hipotálamo-písofira-interrenal (HPI) y la reversión de la hipercotisolinemia. Esto reduce la secreción de cortisol y modula la respuesta fisiológica al estrés oxidativo, un mecanismo que puede ser mediado por la interacción con receptores GABAérgicos como por la inhibición de nNOS/óxido nítrico (Azpeleta *et al.*, 2024; Aranda-Martínez *et al.*, 2022).

Por su parte, la LTH aislada y la contenida en la matriz de las perlas (PCL) también mostraron un efecto ansiolítico significativo, aunque con un perfil de exploración más moderado (110 ± 17.35 y 94 ± 12.35 , respectivamente). La capacidad de la LTH para atenuar el estrés espacial coincide con estudios que demuestran que este aminoácido promueve la relajación sin inducir una sedación profunda. Este mecanismo es particularmente relevante en peces cebra, donde el estrés agudo desencadena un aumento en niveles de cortisol tisular mediante la activación del eje HPI, análogo al eje HPA humano. Al funcionar como análogo del glutamato, la LTH ejerce un antagonismo competitivo directo sobre los receptores NMDA y AMPA, lo que reduce la actividad del eje HPI y consecuentemente disminuye los niveles de cortisol. Adicionalmente, la LTH estimula la generación de ondas alfa, induciendo un estado de relajación (escasa actividad cerebral). Esto marca una diferencia mecanística clave con la melatonina, la cual puede producir una sedación más profunda y una mayor disrupción de la actividad locomotora (da Silva *et al.*, 2025; Azpeleta *et al.*, 2024).

Por otro lado, la **Figura 20** detalla las proporciones y la duración de los episodios de congelación observados en la prueba de Novel Tank. Los grupos CTRL y BASE presentaron la proporción más baja de peces sin episodios de congelación, indicando que la mayoría de los peces experimentaron inmovilidad por estrés agudo y/o ansiedad.

En contraste, los tratamientos con compuestos bioactivos, PCL y MEL, exhibieron una mayor proporción de peces con ausencia de congelamiento en comparación con los controles negativos (**Figura 20A**), sugiriendo un efecto protector inicial frente a las respuestas fisiológicas y de comportamiento inducidas por el estrés agudo, demostrando que la administración de MEL actúa como una señal antiestrés capaz de contrarrestar de manera efectiva la hipercortisolinemia (elevación de los niveles de cortisol) (Azpeleta *et al.*, 2024). Con respecto a la **Figura 20B**, al evaluar específicamente la intensidad del comportamiento de los peces que sí presentaron episodios de congelación, la distribución del número de estos difirió significativamente entre tratamientos ($p < 0.05$). El grupo tratado con PCL y LTH tuvieron mayor proporción a lo esperado con respecto a 1 episodio y una menor proporción a lo esperado con 2 o más episodios de congelación ($p < 0.01$).

Finalmente, respecto a la duración de los episodios (**Figura 20C**), se observó que todos los tratamientos con compuestos bioactivos (PCL, LTH, MEL y LTH+MEL) indujeron tiempos de inmovilidad significativamente mayores (~60-80 seg) frente a los controles negativos (CTRL y BASE). Dado que en la **Figura 18** se comprobó que estos mismos tratamientos promovieron la exploración de la zona superior (menor geotaxis), este aumento en el tiempo de inmovilidad podría representar una atenuación de la hiperactividad impulsiva y la inducción de un estado de calma prolongada, un mecanismo consistente con las propiedades neuromoduladores de relajación de la LTH y la MEL. Sin embargo, también podría representar una sobredosis por parte de los compuestos (Cueto-Escobedo *et al.*, 2022).

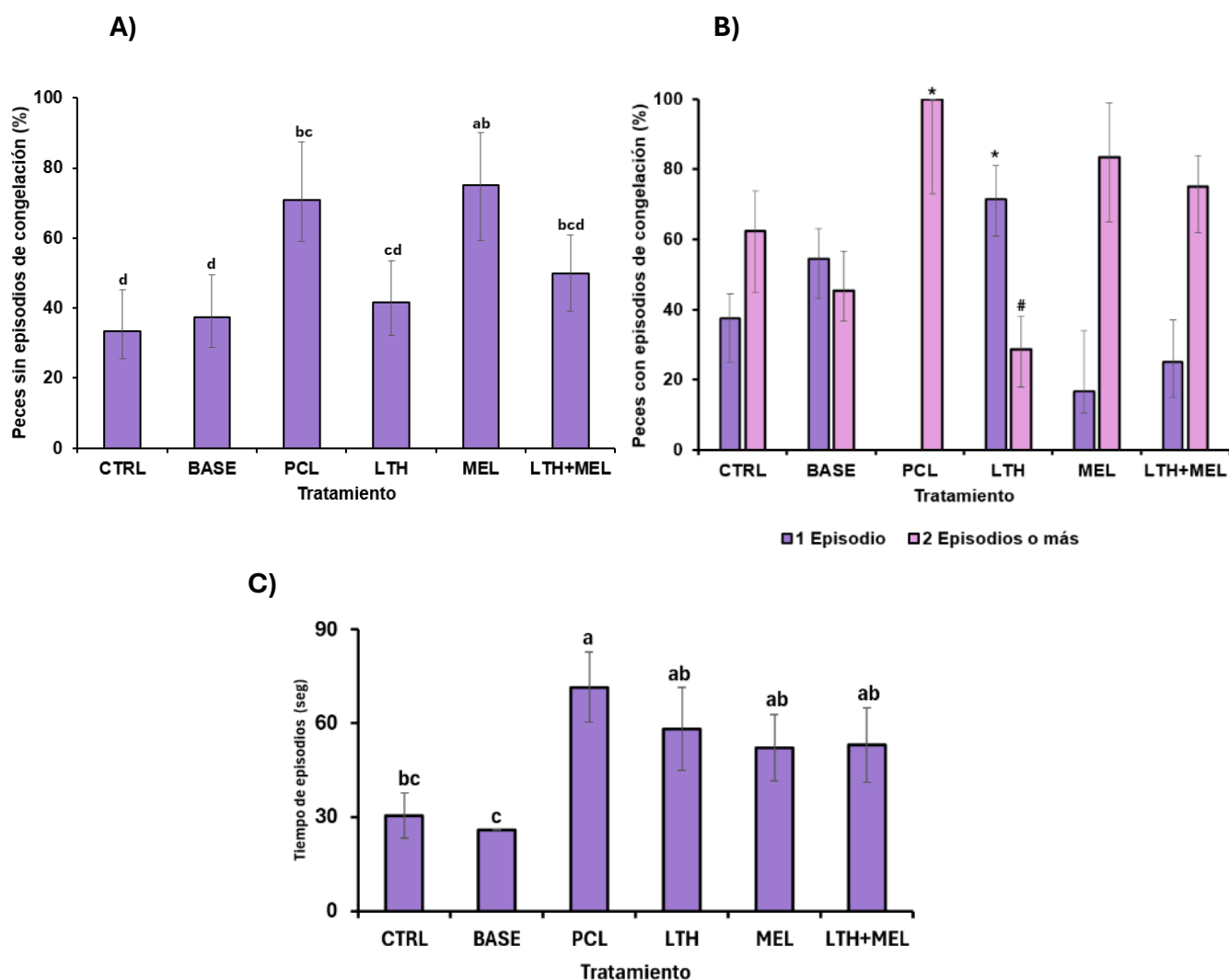


Figura 20. Episodios de congelación de los peces en la prueba de Novel Tank.

A) Proporción porcentual de peces que no tuvieron episodios de congelación durante la prueba (360 seg). Los datos se presentan como la proporción $\pm$ IC 95% (Prueba de Chi-cuadrada seguido de una prueba post-hoc mediante el método Benjamini-Hochberg, $p < 0.05$). **B)** Distribución porcentual del número de episodios de congelación (1 y 2 o más episodios). Las frecuencias relativas se calcularon por episodio entre tratamiento, tomando como el 100% a los peces que presentaron episodios. Los datos se presentan como la proporción $\pm$ IC 95%. Las diferencias en la distribución se analizaron por la prueba de Chi-cuadrada. Los símbolos indican frecuencias significativamente diferentes a lo esperado por azar, identificadas mediante el análisis de residuos estandarizados ajustados ($> |1.96|$). * indica significativamente mayor, # indica significativamente menor ($p < 0.05$). **C)** Tiempo (seg) de los episodios de congelación por tratamiento. Los datos se presentan como media $\pm$ DE (ANOVA seguido de la prueba post-hoc de Tukey, $p < 0.05$). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. BASE: Grupo de perlas de almidón sin cáscara de plátano ni LTH. PCL: Grupo de perlas de almidón de tapioca con cáscara de plátano y LTH. LTH: Grupo de 9 mg de LTH/200 mL. MEL: Grupo de 0.32 mg de MEL/200 mL. LTH+MEL: Grupo de 9 mg de LTH + 0.32 mg de MEL/200 mL.

El análisis conjunto de las pruebas de luz/oscuridad y Novel Tank demuestra que los tratamientos (PCL, LTH y MEL) modulan la ansiedad de manera dependiente del contexto espacial. En el modelo de luz/oscuridad, donde la respuesta de ansiedad es impulsada por el contraste lumínico, los activos estabilizaron el número de transiciones, sugiriendo la inducción de un estado de calma. Por el contrario, en la prueba de Novel Tank, donde la respuesta natural es la geotaxis, los mismos tratamientos promovieron la exploración vertical, incrementando las transiciones hacia la zona superior. Sugiriendo que las PCL pueden estar reduciendo el miedo instintivo, permitiendo una exploración adaptativa según el reto ambiental al que se estén sometiendo, gracias a la acción de ambos compuestos, LTH y MEL (Sabadin *et al.*, 2022). De tal modo, resulta de gran relevancia que el grupo PCL mantuviera este efecto modulador, demostrando que, a pesar de la degradación térmica parcial durante el procesamiento, si existe bioaccesibilidad por parte de estos compuestos para ejercer un efecto fisiológico en el modelo *in vivo*.

VII CONCLUSIONES

La cáscara de plátano constituye una fuente importante de fitomelatonina (28.24 mg/g) y compuestos fenólicos (15.53 mg/g). Su incorporación en la formulación de las PCL las enriqueció con fitomelatonina, y potenció su actividad antioxidante, superando a las perlas comerciales en el ensayo DPPH, gracias a su riqueza fenólica y de melanoidinas. A pesar de que el procesamiento térmico redujo ~58% el contenido inicial de LTH, una porción de 18 g de PCL aporta 85 mg de este aminoácido y 16.58 mg de fitomelatonina, dosis que la literatura asocia con efectos relajantes. Texturalmente, las PCL lograron atributos similares a las COM en la mayoría de las determinaciones; aunque su mayor dureza implica una masticación que demanda más fuerza. Sin embargo, este aspecto no afectó negativamente la preferencia del consumidor, ya que las PCL fueron igualmente preferidas que las COM. Esta equivalencia sensorial respalda su viabilidad comercial como alternativa sin rechazo organoléptico.

Los compuestos bioactivos presentes en las PCL (LTH y MEL) modulan la ansiedad dependiente del contexto espacial en el modelo de pez cebra. Bajo condiciones de contraste lumínico, los tratamientos indujeron un estado de calma al estabilizar las transiciones entre compartimentos; en cambio, en un entorno novedoso, promovieron la exploración vertical al atenuar la geotaxis instintiva. Esto sugiere una reducción del miedo y una respuesta adaptativa al estímulo ambiental y una posible sinergia entre la LTH y MEL, demostrando que los compuestos retienen bioaccesibilidad suficiente tras el procesamiento de cocción para ejercer un efecto fisiológico.

En concreto, estos hallazgos posicionan a las PCL como una alternativa viable para la incorporación en bebidas funcionales con potencial relajante y aceptabilidad sensorial, posicionándose como un producto nutracéutico e innovador dentro del mercado.

VIII REFERENCIAS

Aghdam, M. S., & Arnao, M. B. (2024). Phytomelatonin: From intracellular signaling to global horticulture market. *Journal of Pineal Research*, 76(5). <https://doi.org/10.1111/jpi.12990>

Aname. (2024). Soporte textura, uso correcto del TPA. Consultado el 27 de julio del 2026 de <https://www.analisisdetextura.com/soporte-analisis-de-textura/formacion/uso-correcto-del-tpa>

Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Physical characterization of edible films based on banana peel (Musa Paradisiaca). *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 394-399.

Andrade, N., Rodrigues, I., Carmo, F., Campanher, G., Bracchi, I., Lopes, J., & Silva, C. (2025). Sustainable utilization of coffee pulp, a by-product of coffee production: Effects on metabolic syndrome in fructose-fed rats. *Antioxidants*, 14(3), 266.

Ansari, N. A. I. M., Ramly, N., Faujan, N. H., & Arifin, N. (2023). Nutritional content and bioactive compounds of banana peel and its potential utilization: a review. *Malaysian Journal of Science Health & Technology*, 9(1), 74-86.

Aranda-Martínez, P., Fernández-Martínez, J., Ramírez-Casas, Y., Guerra-Librero, A., Rodríguez-Santana, C., Escames, G., & Acuña-Castroviejo, D. (2022). The zebrafish, an outstanding model for biomedical research in the field of melatonin and human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7438.

Arnao, M., & Hernández, J. (2018). The potential of phytomelatonin as a nutraceutical. *Molecules*, 23(1), 238. <https://doi.org/10.3390/molecules23010238>

Azpeleta, C., Delgado, M. J., Metz, J. R., Flik, G., & de Pedro, N. (2024). Melatonin as an anti-stress signal: Effects on an acute stress model and direct actions on interrenal tissue in goldfish. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1291153.

Batali, M. E., Lim, L. X., Liang, J., Yeager, S. E., Thompson, A. N., Han, J., Ristenpart, W. D., & Guinard, J.X. (2022). Sensory analysis of full immersion coffee:

Cold brew is more floral, and less bitter, sour, and rubber than hot brew. *Foods*, 11(16), 2440. <https://doi.org/10.3390/foods11162440>

Borges, C. V., Minatel, I. O., Belin, M. A., Gomez, H., Monteiro, G. C., Amorim, E. P., & Lima, G. (2018). Serotonin and dopamine in *Musa* spp.: Effect of genotype, ripening and cooking processes. *Proceedings of 1st International Congress on Bioactive Compounds and 2nd International Workshop on Bioactive Compounds - Vol. 1*, ISSN: 2965-2219

Bulathgama, A., Gunasekara, G., Wickramasinghe, I., & Somendrika, M. (2020). Development of commercial tapioca pearls used in bubble tea by microwave heat–moisture treatment in Cassava starch modification. *European Journal of Engineering and Technology Research*, 5, 103–106. DOI: <https://doi.org/10.24018/ejeng.2020.5.1.1455>.

Bulman, A., D’Cunha, N. M., Marx, W., Turner, M., McKune, A., & Naumovski, N. (2025). The effects of LTHanine consumption on sleep outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Sleep medicine reviews*, 81, 102076.

Burbano, D., Senthilkumar, S., & Manzini, M. C. (2023). Exploring emotional contagion in zebrafish: A virtual-demonstrator study of positive and negative emotions. *Behavioural Processes*, 213, 104961.

Cardinali, D. P. (2024). Melatonin as a chronobiotic/cytoprotective agent in bone. Doses involved. *Journal of Pineal Research*, 76(1), e12931.

CIAD. (2026). Subproductos de la industria del café: Una alternativa innovadora para el desarrollo de productos cárnicos más saludables. *Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo*. Consultado el 03 de abril del 2026 desde <https://www.ciad.mx/subproductos-de-la-industria-del-cafe-una-alternativa-innovadora-para-el-desarrollo-de-productos-carnicos-mas-saludables/>

Cruz-Sanabria, F., Bruno, S., Crippa, A., Frumento, P., Scarselli, M., Skene, D. J., & Faraguna, U. (2024). Optimizing the time and dose of melatonin as a sleep-

promoting drug: A systematic review of randomized controlled trials and dose-response meta-analysis. *Journal of Pineal Research*, 76(5), e12985.

Csupor, D., Boros, K., Jedlinszki, N., & Hohmann, J. (2014). A validated RP-HPLC-DAD method for the determination of LTHanine in tea. *Food analytical methods*, 7(3), 591-596.

Cueto-Escobedo, J., German-Ponciano, L. J., Guillén-Ruiz, G., Soria-Fregozo, C., & Herrera-Huerta, E. V. (2022). Zebrafish as a useful tool in the research of natural products with potential anxiolytic effects. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 15, 795285.

Cui, Y., Liu, J., Han, S., Li, P., Luo, D., & Guo, J. (2022). Physical stability of chestnut lily beverages (CLB): Effects of shear homogenization on beverage rheological behavior, particle size, and sensory properties. *Foods*, 11(20), 3188.

da Silva, V. L. D., Mayer, M. S., Severo, A. D. R., Zambra, A. L., Almeida, J. M. D., Sestari, L. M. & Bonfanti-Azzolin, G. (2025). LTHanine modulates tissue cortisol levels in zebrafish after single stress. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61, e23375

del Pino-García, R., García-Lomillo, J., Rivero-Pérez, M. D., González-SanJosé, M. L., & Muñiz, P. (2015). Adaptation and validation of QUick, Easy, New, CHEap, and Reproducible (QUENCHER) antioxidant capacity assays in model products obtained from residual wine pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31), 6922-6931.

dos Santos-Sampaio, T. I., de Melo, N. C., de Freitas-Paiva, B. T., da Silva-Aleluia, G. A., da Silva-Neto, F. L. P., da Silva, H. R., & Carvalho, J. C. T. (2018). Leaves of *Spondias mombin* L. a traditional anxiolytic and antidepressant: Pharmacological evaluation on zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of ethnopharmacology*, 224, 563-578.

Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnong, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidants, antimicrobial activities and

chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001>

Erschine, E., Gültekin Subaşı, B., Vahapoglu, B., & Capanoglu, E. (2022). Coffee phenolics and their interaction with other food phenolics: Antagonistic and synergistic effects. *ACS omega*, 7(2), 1595-1601.

Fatchurohmah, W., Meliala, A., & Sulistyoningih, R. (2019). Effect of banana peel extract on serotonin immunoreactivity and stool consistency in colon of healthy male Wistar rat. *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2094, No. 1, p. 020022). AIP Publishing LLC.

Feng, S., Laurén, P., Zini, J., Gounani, Z., Bi, J., Yi, J., & Laaksonen, T. (2025). Amidated Pectin/Nanocellulose Hybrid Cryogel System with a pH-Responsive Release Profile for Small Intestinal Delivery. *Gels*, 11(9), 700.

Forbes. (2023). Aumento de estrés laboral tiene efectos en la salud de 7 de cada 10 mexicanos. *Forbes México*. <https://forbes.com.mx/aumento-de-estres-laboral-tiene-efectos-en-la-salud-de-7-de-cada-10-mexicanos/>

Freitas, V. V., Borges, L. L. R., Vidigal, M. C., dos Santos, M. H., & Stringheta, P. C. (2024). Coffee: A comprehensive overview of origin, market, and the quality process. *Trends in Food Science & Technology*, 104411.

Fu, J., heng, Y., Gao, Y., & Xu, W. (2022). Dietary fiber intake and gut microbiota in human health. *Microorganisms*, 10, 2507. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122507>

Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597-3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>

Gebauer, D. L., Pagnussat, N., Piato, Â. L., Schaefer, I. C., Bonan, C. D., & Lara, D. R. (2011). Effects of anxiolytics in zebrafish: Similarities and differences between benzodiazepines, buspirone and ethanol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 99(3), 480-486.

Gil, A., Rebollo, M., Cañas, S., Monedero, I., Rodríguez, P., Gila, A., Benítez, V., Arribas, S. M., Aguilera, Y., & Martín, M. A. (2024). Unveiling the nutritional profile and safety of coffee pulp as a first step in its valorization strategy. *Foods*, 13(18), 3006. <https://doi.org/10.3390/foods13183006>

Gulcin, I., & Alwasel, S. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.

Hadisoewignyo, L., Foe, K., & Prasetyo, J. (2023). Factorial experimental design for optimizing the roasting condition of banana peel (*Musa paradisiaca* var Semeru): characteristics and antioxidant activity. *Food Research*, 7(6), 48-53.

Hong, Y., Kao, C., Chang, C., Chang, F., Song, T., Houn, J., & Wu, C. (2023). Anti-inflammatory and T-cell immunomodulatory effects of banana peel extracts and selected bioactive components in LPS-challenged in vitro and *in vivo* models. *Agriculture*, 13(2), 451. <https://doi.org/10.3390/agriculture13020451>

Hu, Z., Xu, Y., Xiong, Y., & Huang, G. (2025). Mechanisms, functions, research methods and applications of starch–polyphenol complexes in the synergistic regulation of physiological parameters. *Foods*, 14(18), 3219.

Jaywant, S. A., Singh, H., & Arif, K. M. (2022). Sensors and instruments for brix measurement: A review. *Sensors*, 22(6), 2290.

Jessel, C. D., Narang, A., Zuberi, R., & Bousman, C. A. (2023). Sleep Quality and Duration in Children That Consume Caffeine: Impact of Dose and Genetic Variation in *ADORA2A* and *CYP1A*. *Genes*, 14(2), 289. <https://doi.org/10.3390/genes14020289>

Jiwan, S., & Tasleem, A. (2018). Bioactive compounds in banana fruits and their health benefits. *Food Quality and Safety*, Volume 2, Issue 4, 183–188, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy019>

Keser, M. G., Yuksel, A., Ekmekci, A. H., & Vatansev, H. (2024). Bedtime banana and milk intake on sleep and biochemical parameters. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 33(4), 481

Khacharat, L., Mahakarnchanakul, W., Sukatta, U., Sae-tan, S., Rugthaworn, P., Klinsukhon, K., & Sakayaroj, S. (2022). Effect of banana peels and phenolic compounds on pigments and citrinin production by *Monascus purpureus*. *Agriculture and Natural Resources*, 56(1), 203-214.

Kitchen, B., & Williamson, G. (2024). Melanoidins and (poly) phenols: An analytical paradox. *Current Opinion in Food Science*, 60, 101217.

Kopjar, M., Tadić, M., & Piližota, V. (2015). Phenol content and antioxidant activity of green, yellow and black tea leaves. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1.

Kukula-Koch, W., Szwajgier, D., Gawel-Bęben, K., Strzępek-Gomółka, M., Głowniak, K., & Meissner, H. O. (2021). Is phytomelatonin complex better than synthetic melatonin? The assessment of the antiradical and anti-inflammatory properties. *Molecules*, 26(19), 6087.

Kumar, S., Chauhan, N., Tyagi, B., Yadav, P., Samanta, A. K., & Tyagi, A. K. (2023). Exploring bioactive compounds and antioxidant properties of twenty-six Indian medicinal plant extracts: A correlative analysis for potential therapeutic insights. *Food and Humanity*, 1, 1670-1679.

Latinus. (2026). El 45% de la población mexicana padece mala calidad del sueño, lo que afecta la salud mental. *Latinus*. Recuperado el 11 de abril del 2026. <https://latinus.us/estilo-de-vida/2026/3/16/el-45-de-la-poblacion-mexicana-padece-mala-calidad-del-sueno-lo-que-afecta-la-salud-mental-167118.html>

Machado, M., Espírito Santo, L., Machado, S., Lobo, J. C., Costa, A. S. G., Oliveira, M. B., Ferreira, H., & Alves, R. C. (2023). Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: from pulp to silverskin. *Foods*, 12(12), 2354. <https://doi.org/10.3390/foods12122354>

Manzoor, S., Rakha, A., Rasheed, H., Munir, S., Abdi, G., Bhat, Z. F., & Aadil, R. M. (2024). Development and evaluation of anxiolytic potential of bagels incorporated

with banana peel flour and lavender. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 101029.

Martín-Trueba, M., Hu, S., Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Arribas, S. M., Gil-Ramírez, A., & Benítez, V. (2025). A multivariate optimization approach to developing a coffee pulp infusion with maximized phenolic compounds, caffeine, and antioxidant properties, applying a validated UHPLC method. *Industrial Crops and Products*, 235, 121835.

Mauro, R. R., Vela, A. J., & Ronda, F. (2023). Impact of starch concentration on the pasting and rheological properties of gluten-free gels: Effects of amylose content and thermal and hydration properties. *Foods*, 12(12), 2281.

Meliala, A., Narwidina, P., Supriyanto, I., Sumarno, Y. T., Pratama, Y. Y., & Damayanti, R. (2022). The role of banana (*Musa balbisiana* colla) peel floss as a functional food matrix to alleviate chronic stress. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1608–1616. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.8432>

Liu, C., Wang, Y., Bai, J., Mao, Y., & Tian, S. (2026). Matrix-Dependent Sweet–Sour Psychophysics: gLMS and Time-Intensity of Sugar Alcohol-Acid Mixture in Liquids and Tablets. *Food Science & Nutrition*, 14(3), e71610.

Moreno, E. (2024). “Caracterización y análisis químico informático *in silico* de cáscara de plátano fermentada con *Rhizopus oligosporus* para evaluar su potencial en la industria farmacéutica y de los alimentos”. *Universidad Autónoma de Querétaro, UAQ*.

Nájera-Maldonado, J. M., Salazar, R., Alvarez-Fitz, P., Acevedo-Quiroz, M., Flores-Alfaro, E., Hernández-Sotelo, D., & Ramírez, M. (2024). Phenolic compounds of therapeutic interest in neuroprotection. *Journal of Xenobiotics*, 14(1), 227-246.

National Research Council (US), Division on Earth, Life Studies, Institute for Laboratory Animal Research, Committee for the Update of the Guide for the Care, & Use of Laboratory Animals. (2010). Guide for the care and use of laboratory animals. 8th edition. *Washington (DC): National Academies Press (US)*.

OIE. (2024). Código Sanitario para los Animales Acuáticos. *Organización Mundial de Sanidad Animal*, capítulo 7.3.

Oladi, E., Mohamadi, M., Shamspur, T., & Mostafavi, A. (2014). Spectrofluorometric determination of melatonin in kernels of four different *Pistacia* varietis after ultrasound-assisted solid-liquid extraction. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 326-329. <https://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.05.010>

Ontawong, A., Duangjai, A., Vaddhanaphuti, C. S., Amornlerdpison, D., Pengnet, S., & Kamkaew, N. (2023). Chlorogenic acid rich in coffee pulp extract suppresses inflammatory status by inhibiting the p38, MAPK, and NF- κ B pathways. *Heliyon*, 9(3), e13917. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13917>

Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942.

Panurywanti, E. E., Wiboworini, B., & Indarto, D. (2021). The effect of banana dose and duration on the decrease of sleep disorders in the elderly. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 11(1), 71-76.

Patil, S., Pimpley, V., Warudkar, K., & Murthy, P. S. (2022). Valorization of coffee pulp for development of innovative probiotic beverage using kefir: physicochemical, antioxidant, sensory analysis and shelf-life studies. *Waste and Biomass Valorization*, 13(2), 905-916.

Prabhu, T., Shenbagavalli, S., Rubika, R., Manivannan, M. I., Baskaran, A., & Rajangam, J. (2024). Unlocking the full potential of functional beverages in medicinal and aromatic plants. *Ann Phytomed*, 13(1), 337-346.

Pranil, T., Moongngarm, A., & Loypimai, P. (2020). Influence of pH, temperature, and light on the stability of melatonin in aqueous solutions and fruit juices. *Heliyon*; 6(3):e03648. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03648. PMID: 32258489; PMCID: PMC7109460.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

PROFECO. (2021). Estudio de calidad: Cafeína. Procuraduría Federal del Consumidor, *Revista del Consumidor*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/619826/ESTUDIO_DE_CALIDAD_CAFEINA.pdf

Poza, J. J., Pujol, M., Ortega-Albás, J. J., & Romero, O. (2022). Melatonina en los trastornos de sueño. *Neurología*, 37(7), 575-585.

Putri, H. N., Nursanto, E. B., Floresyona, D., & Yusouf, M. H. M. (2023). Extraction of flavonoid content from banana peel (*Musa Paradisiaca* L.) by ultrasound–assisted extraction method and its SPF value. *Journal of Emerging Supply Chain, Clean Energy, and Process Engineering*, 2(2), 179-186.

Raksha, U., & Harohally, N. (2024). New gravimetric method for determination of total dissolved solids and percentage extraction for coffee-chicory mixture. *ChemRxiv*. doi:10.26434/chemrxiv-2024-rzgqq

Repova, K., Baka, T., Krajcirovicova, K., Stanko, P., Aziriova, S., Reiter, R. J., & Simko, F. (2022). Melatonin as a potential approach to anxiety treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 16187.

Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., & Lucini, L. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 811-842.

Rohaya, S., Anwar, S. H., Amhar, A. B., Sutriana, A., & Muzaiifa, M. (2023). Antioxidant activity and physicochemical composition of coffee pulp obtained from three coffee varieties in Aceh, Indonesia. *IOP Conference Series Earth and*

Environmental Science, 1182(1), 012063. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1182/1/012063>

Rosales, E. (2023). Desarrollo de una bebida Cold Brew con potencial funcional, a partir de dos subproductos de café *Coffea arabica* L. (pulpa y café de desmanche). *Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química*.

Sabadin, G. R., Biasuz, E., Canzian, J., Adedara, I. A., & Rosemberg, D. B. (2022). A novel behavioral paradigm to measure anxiety-like behaviors in zebrafish by the concomitant assessment of geotaxis and scototaxis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 118, 110579.

Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2022). Evaluation of the antioxidant capacity of food products: Methods, applications and limitations. *Processes*, 10(10), 2031.

SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/planeacion-agricola-nacional-2017-2030-126813>

Salazar-Mardones, G., Cavia-Saiz, M., Temiño, V., Muñiz, P., Garcia-Tojal, J., & Gerardi, G. (2025). Isolation, optimization, and structural characterization of melanoidins obtained from bread industry by-products as bioactive compounds. *Food and Bioprocess Technology*, 1-13.

Sánchez-Quezada, V., Gaytán-Martínez, M., Recio, I., & Loarca-Piña, G. (2023). Avocado seed by-product uses in emulsion-type ingredients with nutraceutical value: Stability, cytotoxicity, nutraceutical properties, and assessment of *in vitro* oral-gastric digestion. *Food Chemistry*, 421(136118), 136118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136118>

Santos, N., Picolo, V., Domingues, I., Perillo, V., Villacis, R., Grisolia, C., & Oliveira, M. (2023). Effects of environmental concentrations of caffeine on adult zebrafish behaviour: A short-term exposure scenario. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(23), 63776-63787.

Secretaría de Economía. (2022). NORMA Oficial Mexicana NOM-255-SE-2022, Café pluma denominación, especificaciones, información comercial y métodos de prueba. *Comité Consultivo Nacional de Normalización de la Secretaría de Economía (CCONNSE)*.

Secretaría de Economía. (2024). Plátanos frescos o secos: Intercambio comercial, compras y ventas internacionales, mercado y especialización. *Data México*. <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/product/fresh-or-dried-bananas>

Secretaría de Salud. (2024). Hasta 80 por ciento de los problemas para dormir se resuelve con buena higiene del sueño. *Secretaria de Salud*. <https://www.gob.mx/salud/prensa/111-hasta-80-por-ciento-de-los-problemas-para-dormir-se-resuelve-con-buena-higiene-del-sueno>

Shiga, K., Hara, H., Aoyama, Y., & Okano, G. (2003). Ingestion of water-soluble soybean fiber prevents gastrectomy-induced iron malabsorption, anemia and impairment of voluntary running exercise performance in rats. *The Journal of Nutrition*, 133(4), 1120–1126. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1120>

Shini, V. S., Billu, A., Suvachan, A., & Nisha, P. (2024). Exploring the nutritional, physicochemical and hypoglycemic properties of green banana flours from unexploited banana cultivars of southern India. *Sustainable Food Technology*, 2(4), 1113-1127.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In methods in enzymology. *Academic Press*, 299(1974), 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Smirnov, V., Khramova, D., Chistiakova, E., Zueva, N., Vityazev, F., Velskaya, I., & Popov, S. (2025). Texture perception and chewing of Agar gel by people with different sensitivity to hardness. *Gels*, 11(1), 5.

Streker, M., Proksch, E., Kattenstroth, J. C., Poeggeler, B., & Lemmnitz, G. (2025). Comparative assessment of nutraceuticals for supporting skin health. *Nutraceuticals*, 5(2), 13.

Tanasa, V., Moise, D., & Stanca, M. (2016). Separation and quantification of biogenic amines in bananas by high performance liquid chromatography. *Food and Environment Safety Journal*, 14(3).

Tebbe, A., Faulkner, M., & Weiss, W. (2017). Effect of partitioning the nonfiber carbohydrate fraction and neutral detergent fiber method on digestibility of carbohydrates by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6218-6228.

Temple, N. J. (2022). A rational definition for functional foods: A perspective. *Front Nutrition*. 9:957516. doi: 10.3389/fnut.2022.957516. PMID: 36245478; PMCID: PMC9559824.

The Food Tech. (2024). Psicología del sabor dulce en productos saludables: claves para satisfacer al consumidor. *The Food Tech*. <https://thefoodtech.com/soluciones-y-tecnologia-alimentaria/psicologia-del-sabor-dulce-estrategias-para-mejorar-la-satisfaccion-del-consumidor-en-productos-saludables/>

Tominaga, T., Furushima, D., Unno, K., Sugiyama, I., Ozeki, M., Nakamura, Y., & Yamada, H. (2022). An exploratory evaluation of a low dose theanine consumption on improving sleep in middle-aged and older males. *Food Science Nutrition Research*, 5(1), 1-7.

Unigarro, C. A. (2022). Fenología y fisiología del fruto de café: Revisión y avances de investigación. *Memorias Seminario Científico Cenicafé*, 73, e73108-e73108.

Verma, R., Choudhary, P., Nirmal, N., Syed, F., & Verma, R. (2022). Neurotransmitter systems in zebrafish model as a target for neurobehavioural studies. *Materials Today: Proceedings*, 69, 1565-1580.

Virgen-Carrillo, C. A., & Mojica, L. (2024). Revisión histórica y conceptual de los alimentos funcionales: Antecedentes, perspectivas y desafíos. *Journal of Behavior and Feeding*, 4(7), 11-20.

Vu, H., Scarlett, C., & Vuong, Q. (2018). Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. *Journal of functional foods*, 40, 238-248.

Wang, H., Yang, Y., Chen, L., Xu, A., Wang, Y., Xu, P., & Liu, Z. (2024). Identifying the structures and taste characteristics of two novel Maillard reaction products in tea. *Food Chemistry*, 431, 137125.

Wang, J., Wang, Y., Cai, M., Zhang, X., Yu, X., Zhao, G., & Dong, H. (2026). Stress and sleep: Novel insights into stress-related sleep disorders from EEG features to neural circuitry. *Sleep Medicine*, 108915.

Wang, L., Brennan, M., Li, S., Zhao, H., Lange, K. W., & Brennan, C. (2022). How does the tea LTHanine buffer stress and anxiety. *Food Science and Human Wellness*, 11(3), 467–475. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.004>

Wani, K. M., & Dhanya, M. (2025). Unlocking the potential of banana peel bioactives: extraction methods, benefits, and industrial applications. *Discover Food*, 5(1), 8.

Wei, C. (2024). The story behind bubble tea, Taiwan's iconic drink. *National Geographic*. Consultado el 13 de abril del 2026. <https://www.nationalgeographic.com/travel/article/what-is-boba-bubble-tea-taiwan>

Yang, A., Zhang, Z., Jiang, K., Xu, K., Meng, F., Wu, W., & Wang, B. (2024). Study on ultrasound-assisted extraction of cold brew coffee using physicochemical, flavor, and sensory evaluation. *Food Bioscience*, 61, 104455.

Younes, A., Karboune, S., Liu, L., Andreani, E. S., & Dahman, S. (2023). Extraction and characterization of cocoa bean shell cell wall polysaccharides. *Polymers*, 15(3), 745.

Yasin, M., Gangan, S., & Panchal, S. K. (2025). Banana peels: A genuine waste or a wonderful opportunity?. *Applied Sciences*, 15(6), 3195.

Yu, X., Li, G., Liu, J., Chen, Y., & Wang, F. (2025). Anxiolytic effects of natural products: Pathological mechanisms, molecular targets, therapeutic prospects. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2623-2653.

Zhang, J., Sun, X., Liu, P., Zhang, T., Jelderks, J. A., & Corke, H. (2022). Preliminary characterization of phytochemicals and polysaccharides in diverse coffee cascara samples: Identification, quantification and discovery of novel compounds. *Foods*, 11(12), 1710. <https://doi.org/10.3390/foods11121710>

Zhong, X., Zhang, S., Wang, H., Yang, J., Li, L., Zhu, J., & Liu, Y. (2022). Ultrasound-alkaline combined extraction improves the release of bound polyphenols from pitahaya (*Hylocereus undatus*' Foo-Lon') peel: Composition, antioxidant activities and enzyme inhibitory activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106213.

IX ANEXOS

Anexo 1. Invitación de reclutamiento



ANÁLISIS SENSORIAL

Cold Brew con perlas de tapioca con cáscara de plátano y L-teanina

El Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos busca
voluntarios para participan en evaluación sensorial



Requisitos

- Mujeres y hombres
- Tener entre 18 y 55 años
- Bebedores habituales y esporádicos de
café y/o Bubble Tea
- No presentar intolerancia a la cafeína
- No estar embarazada o lactando

INFORMES AL
442 36 77 911



Anexo 2. Formato de consentimiento informado



Consentimiento informado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Posgrado de Alimentos, Facultad de Química

“Carta consentimiento para participar en el proyecto de investigación”

Título del protocolo:

“DESARROLLO DE PERLAS DE ALMIDÓN DE YUCA CON CÁSCARA DE PLÁTANO (*Musa spp.*) Y L-TEANINA CON POTENCIAL RELAJANTE PARA UNA BEBIDA TIPO “BUBBA COLD BREW” A BASE DE PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)”

Investigador principal: Dra. Rocio Campos Vega

Sede donde se realizará el estudio: Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos.

Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

Invitación

Se le invita a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como *consentimiento informado*. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las bebidas funcionales a base de plantas han tomado auge por su crecimiento en el mercado global, especialmente aquellas que promueven la relajación, la calidad del sueño y el estado de ánimo. Entre las bebidas en tendencia se encuentran las tipo “Bubble Tea”, aquellas que tienen perlas de tapioca o almidón de yuca; y las tipo “Cold Brew”, una bebida a base de café obtenida mediante una infusión sólido-líquido.

La cáscara de plátano es un subproducto poco aprovechado que contiene compuestos bioactivos, como la fito-melatonina, que ayuda a favorecer el sueño y la relajación. De igual forma, la L-teanina es un aminoácido no proteinogénico presente en el té verde que ayuda en la regulación del ciclo circadiano y en la mejora de la calidad del sueño, particularmente en condiciones de estrés y ansiedad. Además, la pulpa de café, otro subproducto ha sido identificada como una fuente de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y poca cantidad de cafeína (1 mg/g). Por lo que, el presente estudio se justifica en la necesidad de desarrollar un producto que tenga efectos relajantes, que integre ingredientes funcionales, como la cáscara de plátano y la L-teanina, utilizando como base la pulpa de café.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Desarrollar perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano (*Musa spp.*) y L-teanina para su adición en una bebida Cold Brew a base de pulpa de café (*Coffea arabica* L.) para evaluar su potencial relajante.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio permitirá conocer la aceptabilidad de las perlas de tapioca con cáscara de plátano y L-teanina en una bebida elaborada a partir de pulpa de café por parte del consumidor.

4. CRITERIOS DE RECLUTAMIENTO

El reclutamiento de participantes será de 50 personas que sean consumidores habituales de café y/o “Bubble tea”. El cual se realizará a través de una invitación abierta dentro de la Universidad Autónoma de Querétaro dentro de la Facultad de Química y a través de redes sociales. La participación será voluntaria, que tengan entre 18 y 55 años. Como criterios de exclusión serán aquellas personas que tengan intolerancia a la cafeína, mujeres embarazadas o lactantes, consumidores de alguna droga, además de no contar con hipertensión, diabetes, o enfermedades neurológicas. Del mismo modo, se eliminará a cualquier participante que decida abandonar el estudio o que le falte al respeto al equipo de trabajo.

5. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Se le dará a tomar una bebida Cold Brew con las perlas de almidón de yuca con cáscara de plátano y L-teanina y la misma bebida con perlas comerciales. Se le proporcionarán los formatos de evaluación sensorial para conocer la aceptabilidad y la preferencia de las bebidas, en donde se realizará una prueba hedónica de 9 puntos, desde me disgusta muchísimo hasta me gusta muchísimo; y una prueba de preferencia entre la bebida con las perlas desarrolladas y la bebida con las perlas comerciales. Las muestras se entregarán en dosis de 15 mL. Este análisis tendrá la duración de aproximadamente 10 minutos.

6. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

La bebida Cold Brew se analizó microbiológicamente para determinar el número total de bacterias mesófilas aerobias, de hongos y levaduras, de microorganismos indicadores como *Escherichia coli* y de la determinación de *Salmonella* spp. Del mismo modo, las bebidas contienen una dosis de cafeína por debajo de la dosis permitida en niños y/o adolescentes, por lo que es seguro su consumo. Sin embargo, puede existir la sensibilidad a la cafeína.

No obstante, si en el tiempo en el que se está realizando la evaluación sensorial muestra algún malestar será excluido del análisis y será enviado a los servicios médicos del equipo de salud en el edificio 1 de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, en donde los gastos médicos serán cubiertos por parte del equipo de investigación.

7. ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria y en el momento que decidan retirarse podrán hacerlo.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide no participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, pudiendo informar o no las razones de su decisión.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable.
- Los datos recuperados únicamente serán utilizados para la investigación en curso y toda la información será codificada con el fin de no identificar las respuestas con el participante en cuestión.
- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, se le proporcionará el cuidado médico apropiado, será canalizado inmediatamente al consultorio médico de servicios de salud de FarmaUAQ de la Universidad Autónoma de Querétaro, ubicada en la explanada de rectoría.
- La información obtenida en este estudio será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- La participación o abandono del estudio no tendrá repercusiones académicas ni profesionales y no afectará la relación con el personal investigador.
- La participación en este estudio no está relacionada, ni positiva ni negativamente, a cualquier calificación, materia o evaluación.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.
- Aquellas personas que padezcan de hipertensión, diabetes, o enfermedades neurológicas no podrán participar en la evaluación.

8. INFORMACIÓN DE CONTACTO

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, usted puede consultar al médico de su confianza. En caso de que tenga cualquier pregunta acerca del resguardo de su información, sobre su participación en el proyecto o en caso de una emergencia, llame al número: 4423677911, con la I.I.A. Grecia Lizbeth Ramírez o al correo electrónico: chio_cve@yahoo.com.mx con la investigadora a cargo, la Dra. Rocío Campos Vega.

9. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Nombre y firma del participante

Fecha

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Nombre y firma del investigador

Fecha

Anexo 3. Carta de revocación de consentimiento

Título del protocolo:

“DESARROLLO DE PERLAS DE ALMIDÓN DE YUCA CON CÁSCARA DE PLÁTANO (*Musa spp.*) Y L-TEANINA CON POTENCIAL RELAJANTE PARA UNA BEBIDA TIPO “BUBBA COLD BREW” A BASE DE PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)”

Investigador principal: Dra. Rocio Campos Vega

Sede donde se realizará el estudio: Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

Nombre del participante: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Opcional)

Nombre y firma del participante

Fecha de la firma

Anexo 4. Cuestionario de salud previo

1. ¿Padece alguna alergia alimentaria o a alguno de los ingredientes del producto (caféina, tapioca, plátano, L-teanina)? (Sí/No)
2. ¿Está tomando algún medicamento o suplemento que pueda afectar su percepción sensorial o salud? (Sí/No)
3. ¿Tiene alguna condición médica crónica (hipertensión, diabetes, trastornos neurológicos, etc.)? (Sí/No)
4. ¿Está embarazada o lactando? (Sí/No)
5. ¿Ha consumido alcohol o drogas en las últimas 24 horas? (Sí/No)
6. ¿Se siente en buen estado de salud general hoy? (Sí/No)