



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Desarrollo de un gel enriquecido con subproducto de betabel

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta:

Rosa Adriana Ayala Tirado

Dirigido por:

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola

Co-dirigido por:

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola
Presidente

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Secretario

Dra. Marcela Gaytán Martínez
Vocal

MC. Vianney Curiel Cervantes
Suplente

Dr. Héctor Paul Reyes Pool
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Diciembre, 2019
México

Dirección General de Bibliotecas UAQ

A todas las personas que me apoyaron y formaron parte de este proyecto a nivel académico y personal.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a las instalaciones brindadas por la Universidad Autónoma de Querétaro durante mi estancia en esta institución y el apoyo económico otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) durante el periodo de mis estudios de posgrado.

En particular, gracias a mis padres por haber estado siempre comprometidos con mi superación personal y bienestar durante la permanencia en la maestría. Gracias a todos los doctores que estuvieron allí para resolver atinadamente mis dudas.

Dirección General de Bibliotecas UAO

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
SUMMARY.....	vii
I.INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Alimentos funcionales y nutraceuticos.....	3
2.2 Betabel y composición química	4
2.3 Residuos orgánicos en la industria alimentaria como fuente de fibra y antioxidantes	5
2.4 Componentes bioactivos del betabel.....	6
2.4.1 Antioxidantes.....	6
2.4.2 Betalaínas	8
2.4.2.1 Efectos benéficos en la salud	9
2.4.3 Nitratos y nitritos.....	10
2.6 Fibra dietética	11
2.7 Bioaccesibilidad y factores que la afectan	12
2.8 Geles de carboximetilcelulosa (CMC).....	13
2.8.1 Aplicaciones de carboximetilcelulosa	14
II. JUSTIFICACIÓN.....	15
III. HIPÓTESIS.....	16
IV. OBJETIVOS	16

4.1 Objetivo general.....	16
4.2 Objetivos específicos.....	16
V. METODOLOGÍA.....	17
5.1 Materiales químicos.....	17
5.2 Materia prima.....	17
5.2.1 Preparación de polvo de subproducto de betabel	17
5.3 Caracterización química del subproducto de betabel	18
5.3.1 Determinación del contenido de humedad	18
5.3.2 Determinación de cenizas	18
5.3.3 Determinación de proteína	19
5.3.4 Determinación de grasa	19
5.3.5 Determinación de fibra dietética total	20
5.3.6 Determinación de fibra dietética insoluble y soluble	21
5.3.7 Determinación de minerales.....	21
5.3.8 Determinación del valor energético	21
5.4 Extracción y cuantificación de betalaínas, polifenoles, flavonoides, nitratos y nitritos en subproducto de betabel en polvo	21
5.4.1 Extracción de betalaínas	21
5.4.2 Determinación de betalaínas.....	22
5.4.3 Extracción de polifenoles y flavonoides.....	22
5.4.4 Determinación de fenoles totales	23
5.4.5 Determinación de flavonoides	23
5.4.6 Extracción de nitratos y nitritos.....	23
5.4.7 Determinación de de nitratos y nitritos	24

5.5 Propiedades fisicoquímicas de las muestras en polvo	24
5.5.1 pH.....	24
5.5.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y capacidad de absorción de aceite (CAa)	24
5.6 Elaboración del gel de carboximetilcelulosa	25
5.7 Evaluación <i>in vitro</i> de los pHs gastrointestinales en betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides del gel de CMC enriquecido con subproducto y del subproducto de betabel en polvo.....	25
5.8 Análisis estadístico	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	27
6.1 Caracterización química del subproducto de betabel y valor energético	27
6.2 Determinación de betalaínas, fenoles totales, flavonoides, nitratos y nitritos en subproducto de betabel en polvo.....	30
6.3 Determinación de capacidad de absorción de agua (CAA) y capacidad de absorción de aceite (CAa)	31
6.4 Elaboración del gel de CMC	32
6.5 Efecto del pH gastrointestinal en betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides en el gel de CMC enriquecido con subproducto y del subproducto de betabel en polvo	32
VII. CONCLUSIONES.....	35
VIII. REFERENCIAS	36
IX. ANEXOS.....	45
Anexo 1. Formulaciones probadas para el desarrollo del gel de CMC con el subproducto de betabel incorporado.	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición proximal del subproducto de betabel en polvo.....	29
Tabla 2. Compuestos bioactivos en subproducto de betabel en polvo.....	31
Tabla 3. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa).....	32
Tabla 4. Compuestos bioactivos iniciales del subproducto de betabel incorporado en el gel de CMC y subproducto de betabel en polvo.....	32
Tabla 5. Cuantificación de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides de subproducto de betabel en diferentes pH.....	34

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras generales de las betalainas.....	8
--	---

Dirección General de Bibliotecas UAQ

RESUMEN

El subproducto de la elaboración de jugo de betabel, siendo aún de alto valor nutricional, es desechado o destinado como biocombustible. Estudios acerca de la composición química del subproducto de betabel reportan que contiene características nutricionales de interés como fibra soluble e insoluble, es fuente de compuestos bioactivos: betalaínas y polifenoles, también aporta minerales como hierro, calcio, fósforo y vitamina C. No obstante, factores como el pH del medio gástrico, enzimas digestivas como α -amilasa pancreática y glucosidasas, pueden degradar los antioxidantes presentes en el subproducto de betabel. De esta manera, su bioaccesibilidad se ve acotada y eventualmente su biodisponibilidad es baja cuando esta es evaluada en humanos. Limitando los efectos fisiológicos en el organismo que estos antioxidantes pudieran promover. Una estrategia innovadora para minimizar este impacto es la incorporación del subproducto de betabel en geles de carboximetilcelulosa. Un polímero que ha demostrado proteger a los antioxidantes y nitrato del jugo de betabel, cuando este es incorporado en la matriz de polímeros en comparación con el jugo exento de ella. Además, la presentación en forma de gel mejora la palatabilidad y aceptación del consumidor, siendo este uno de los retos que enfrentan actualmente los subproductos alimenticios.

(Palabras clave: betabel, betalaínas, subproducto, fibra dietética).

SUMMARY

The byproduct of the production of beet juice, while still of high nutritional value, is discarded or destined as biofuel. Studies about the chemical composition of the beet byproduct report that it contains nutritional characteristics of interest as soluble and insoluble fiber, it is a source of bioactive compounds: betalains and polyphenols, it also provides minerals such as iron, calcium, phosphorus and vitamin C. However, factors such as the pH of the gastric medium, digestive enzymes such as pancreatic α -amylase and glucosidases, can degrade the antioxidants present in the beet byproduct. In this way, its bioavailability is limited and eventually its bioavailability is low when it is evaluated in humans. Limiting the physiological effects in the body that these antioxidants could promote. An innovative strategy to minimize this impact is the incorporation of the beet byproduct into carboxymethyl cellulose gels. A polymer that has been shown to protect antioxidants and nitrate from beet juice, when it is incorporated into the polymer matrix compared to the juice free of it. In addition, the presentation in the form of a gel improves the palatability and acceptance of the consumer, this being one of the challenges currently facing food by-products.

(Key words: beetroot, betalains, byproduct, dietary fiber).

I. INTRODUCCIÓN

Recientemente, un vegetal que ha despertado el interés científico debido a su actividad biológica y usos vastos como alimento funcional es el betabel (*beta vulgaris rubra*). El cual contiene compuestos bioactivos de interés como: betalaínas, nitrato, flavonoides y polifenoles. Como fuente de betalaínas, diversos estudios demuestran que estas sustancias fitoquímicas tienen una alta capacidad antioxidante y antiinflamatoria. De esta manera, el betabel se está contemplando como un tratamiento terapéutico adjunto a patologías relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación crónica. Así como, para mejorar la salud y el rendimiento físico en actividades deportivas (Clements *et al.*, 2014; Clifford *et al.*, 2015).

El subproducto de la elaboración de jugo de betabel, siendo aún de alto valor nutricional, es desechado o destinado como biocombustible. Debido a la cantidad de antioxidantes y fibra que contiene este residuo, la elaboración de suplementos alimenticios puede ser una alternativa que permita aprovechar las sustancias fitoquímicas y de fibra que aporta esta materia. Así como, ser una opción natural que pueda formar parte de la dieta regular y ofrecer beneficios a la salud de las personas que lo consuman (Costa *et al.*, 2017).

No obstante, factores como el pH del medio gástrico, enzimas digestivas como α -amilasa pancreática y glucosidasas, metabolismo por enzimas de fase I y II, degradan los antioxidantes presentes en el subproducto de betabel (Tesoriere *et al.*, 2008). De esta manera, su bioaccesibilidad se ve acotada y eventualmente su biodisponibilidad es baja cuando esta se evalúa en humanos, limitando los efectos fisiológicos en el organismo que estos antioxidantes pudieran promover (Netzel *et al.*, 2005; Frank *et al.*, 2005). Una estrategia innovadora para minimizar este impacto es la incorporación del subproducto de betabel en geles de carboximetilcelulosa. Un hidrocoloide que ha demostrado proteger a los antioxidantes y nitrato del jugo de betabel, cuando este es incorporado en la matriz

de carboximetilcelulosa en comparación con el jugo exento de ella (Morgado *et al.*, 2016).

Dado a los antecedentes que existen respecto a los factores que pueden interferir en la bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes del subproducto de betabel, se propuso el desarrollo de un gel de carboximetilcelulosa, que fue enriquecido con el subproducto de betabel, con la finalidad de brindarles una matriz protectora frente a las condiciones adversas del tracto gastrointestinal. Posteriormente se evaluó el efecto *in vitro* del pH gastrointestinal en las betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides del gel enriquecido con subproducto de betabel en comparación con el subproducto en polvo.

II. ANTECEDENTES

2.1 Alimentos funcionales y nutraceuticos

En los últimos años, ha crecido fuertemente el interés público y la demanda del consumidor por nutraceuticos y alimentos funcionales. Los principales motivos son debido a una tendencia poblacional a la conservación de la salud y prevención de enfermedades. Todo ello, ha impulsado la investigación gradual por la identificación de propiedades y aplicaciones potenciales de las llamadas sustancias bioactivas. Las cuales provean beneficios fisiológicos como: rendimiento en actividades físicas, defensa antioxidante y retraso de sintomatologías en enfermedades crónicas no transmisibles (Wildman, 2016).

Dado que existen diversas definiciones en torno a los alimentos funcionales, es importante definir las que serán claves en este trabajo:

Según el *International Life Science Institute* (ILSI) se considera “un alimento como funcional a todo aquel alimento natural o procesado que ejerce satisfactoriamente un efecto beneficioso sobre una o más funciones del organismo, además de sus efectos nutritivos inherentes. De tal modo, que resulta apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas”. Además podemos incluir bajo este concepto a alimentos que hayan sufrido modificaciones de sus componentes; pudiéndose añadir, eliminar y/o alterar la biodisponibilidad en alguno o varios de estos (Valenzuela *et al.*, 2014; Wildman, y Keller, 2016).

Se entiende por nutraceuticos a aquellos compuestos químicos encontrados de manera natural en los alimentos; cuya presentación es una matriz no alimenticia (píldoras, pastillas, cápsulas, tónicos, etc.), con propiedades que ejercen beneficios fisiológicos en el organismo actuando como preventivos o como tratamiento para una o varias enfermedades. Designándose el nombre de fitoquímicos a los nutraceuticos, cuando el compuesto es obtenido de plantas

(Galanakis, 2016). Cabe mencionar, que un nutracéutico no es un alimento, sino una parte de este, cuyos compuestos de interés han sido aislados (Wildman, y Keller, 2016).

De acuerdo a Cofepris (2016), se entiende de manera textual, por suplemento alimenticio:

“Producto a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas, adicionados o no, de vitaminas o minerales, que se pueden presentar en forma farmacéutica y cuya finalidad de uso sea incrementar la ingesta dietética total, complementarla o suplir algún componente”.

En cuanto a los compuestos bioactivos, estos son fitoquímicos presentes en los alimentos que son capaces de modular procesos metabólicos y dar como resultado la promoción de una mejor salud. A futuro, se les considera como candidatos a nuevos medicamentos, ya que son absorbidos y metabolizados de manera similar a los medicamentos sintéticos. La variedad es amplia, existen de 80, 000 a 100, 000 compuestos bioactivos presentes tan solo en el reino vegetal. Algunos de los efectos beneficiosos que ofrecen son los siguientes: actividad antioxidante, inhibición o inducción de enzimas, inhibición de actividades de receptores e inducción e inhibición de la expresión génica (Vattem y Maitin, 2015; Galanakis, 2016).

2.2 Betabel y composición química

El betabel (*Beta vulgaris*), también conocido como remolacha, es una hortaliza cultivada principalmente por sus grandes raíces, aunque sus hojas también tienen cabida en la alimentación, la forma de su raíz varía desde ovalada a redonda y de cónica a cónica alargada. El color de la piel y de la pulpa es generalmente rojo oscuro-violáceo. Su inclusión en la alimentación remota desde el año 1000 A.C. en la población de la cuenca Mediterránea. Para los romanos, la raíz del betabel

tenía diversas aplicaciones medicinales y sus hojas formaban parte de la dieta habitual (Ninfali y Angelino, 2013).

Estudios acerca de la composición química del betabel reportan que contiene: agua (87.5%), carbohidratos (9.5%), fibra (2.8%), azúcares (6.7%) proteínas (1.6%), minerales, como el potasio, calcio, hierro, magnesio y fósforo y vitaminas como riboflavina, niacina y vitamina C (USDA, 2016). Además se han identificado compuestos bioactivos como: nitratos, polifenoles, ácido ascórbico, flavonoides y betalainas, que pueden proporcionar beneficios en la salud y en la enfermedad, principalmente en padecimientos relacionados con el estrés oxidativo, la inflamación y la función endotelial (Clifford *et al.*, 2015).

2.3 Residuos orgánicos en la industria alimentaria como fuente de fibra y antioxidantes

A nivel industrial se generan una gran cantidad de residuos orgánicos, provenientes principalmente del procesamiento de las frutas y vegetales. Estos incluyen desechos como la carne, corona y cáscara. Hoy en día, el subproducto de la industria (15-30%) es utilizado como forraje para la alimentación de animales, fertilizante y en la producción de biocombustible. Sin embargo, este residuo inicialmente considerado como un problema ambiental es una fuente de compuestos bioactivos y de fibra que podrían tener un beneficio potencial para la salud humana (Vulić *et al.*, 2014).

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales, no sólo ha despertado un creciente interés debido a su rentabilidad, sino también por su utilización como material para generar aditivos alimentarios, suplementos alimentarios con un alto contenido nutricional y de compuestos antioxidantes, que pueden inhibir no sólo la aparición de estrés oxidativo en patologías asociadas, sino también, retardar y/o prevenir el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en humanos (Djilas *et al.*, 2009).

En cuanto al subproducto generado de la elaboración de jugo de betabel, el cual incluye la pulpa y cáscara. Costa *et al.*, en 2017 reportan que contiene compuestos nutricionales como fibra soluble e insoluble y además lo postulan como fuente de compuestos bioactivos: betalainas y polifenoles. Asimismo, Shyamala y Jamuna (2010) identificaron que este remanente aporta algunos minerales como hierro, calcio, fósforo y vitamina C. Bajo este contexto, los desechos del procesamiento de betabel pueden utilizarse como una alternativa para general suplementos, ingredientes funcionales y nutraceuticos, con un alto valor nutricional.

2.4 Componentes bioactivos del betabel

2.4.1 Antioxidantes

La definición actual de "antioxidante" hace referencia a aquellas moléculas que tienen la capacidad de retardar o prevenir que otras moléculas se oxiden, siendo los ácidos grasos los principales beneficiados. Sabemos que, diversas alteraciones fisiológicas en el cuerpo humano pueden desencadenarse debido a las reacciones de oxidación, provocando una variedad de enfermedades crónicas como diabetes, artritis, hipertensión, obesidad, etc. (Kumar *et al.*, 2017).

Según su naturaleza, los antioxidantes se clasifican en dos maneras: antioxidantes exógenos (no enzimáticos) cuando estos son adquiridos a través de los alimentos que consumimos y antioxidantes endógenos (enzimáticos) referidos a un conjunto de enzimas de defensa segregadas por el organismo: peróxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, la tioredoxina reductasa y glutatión reductasa. Ambos tipos de antioxidantes pueden ejercer sus efectos tanto dentro como en el exterior de la célula y son complementarios entre sí (Liu, 2013).

Los antioxidantes exógenos presentes en frutas y hortalizas reportan diferentes efectos, entre los cuales se encuentran:

- Previenen la lesión oxidativa durante y después del ejercicio agudo, mediante la ingesta de antioxidantes como vitaminas C y E, carotenoides y

polifenoles (Aoi *et al.*, 2006).

- En las enfermedades cardiovasculares, reducen el tamaño de lesiones ateromatosas, inhiben la agregación plaquetaria y reducen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Serafini *et al.*, 2000).
- Protegen a la piel del estrés oxidativo causado por la radiación de los rayos U.V. (Godic *et al.*, 2014).
- Tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres y con ello prevenir ciertos padecimientos crónicos como, diabetes *mellitus*, algunos tipos de cáncer y enfermedades neurodegenerativas (Arts y Hollman, 2005).
- El beneficio de la absorción de antioxidantes se ha demostrado en algunas enfermedades y afecciones como asma, hemodiálisis, talasemia, artritis reumatoide, ataque sistémico, posmenopausia, esquizofrenia, depresión y leucemia (Mut-Salud *et al.*, 2016).

2.4.2 Betalaínas

El betabel se posiciona entre las 10 hortalizas más potentes respecto a la capacidad antioxidante (Kähkönen *et al.*, 1999). Las betalaínas son uno de los compuestos bioactivos presentes en el betabel a las cuales se les atribuye una capacidad antioxidante. En el reino vegetal estos compuestos nitrogenados hidrosolubles son responsables de la coloración amarilla y rojo violeta de flores, frutos y hojas de las plantas de la mayoría de las familias del orden *Caryophyllales* (Strack *et al.*, 2003; Vieira *et al.*, 2019).

El ácido betalámico, cuya estructura se presenta en la Figura 1, es el cromóforo común a todos los pigmentos betalánicos, consecuentemente dependiendo de los residuos adheridos a esta estructura base; los derivados de las betalaínas pueden ser clasificados como betacianinas (λ_{max} a 540 nm) y betaxantinas (λ_{max} a 480 nm) (Figura 1). Las betacianinas presentan una estructura cerrada de ciclo-DOPA (ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina) y pueden estar sustituidas con azúcares y grupos acilo, mientras que el grupo de las betaxantinas están conjugadas con aminas y aminoácidos (Azeredo, 2009).

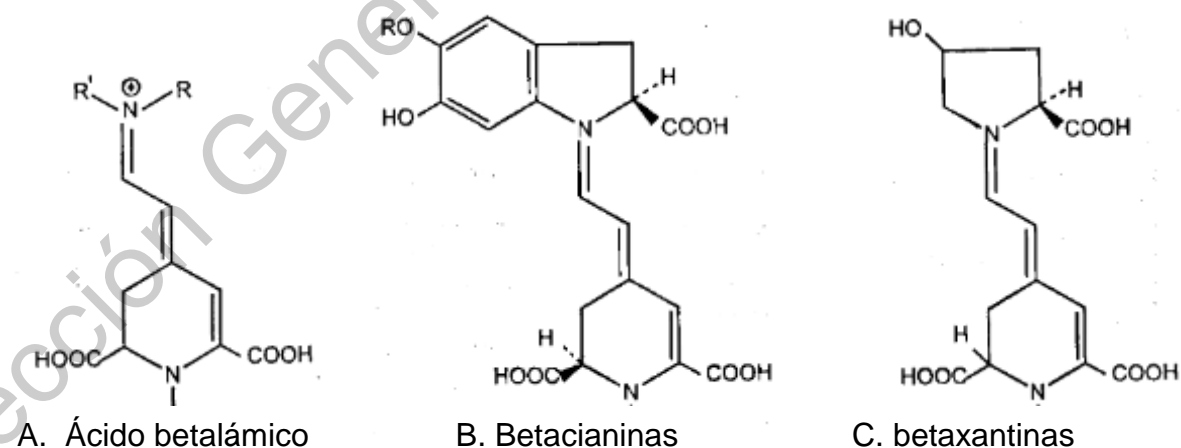


Figura 1. Estructuras generales de las betalaínas (Strack *et al.*, 2003)

El cultivo más importante para la obtención comercial de estos pigmentos es el betabel. Dentro de los compuestos betalaínicos rojo-violeta, algunos de los más reportados e investigados son: betanina, isobetanina, betanidina e isobetanidina. En lo que respecta a los pigmentos amarillo-naranja, se destacan: vulgaxantina I y vulgaxantina II. Referente al contenido de betalaínas, Nilsson (1970) reporta que este, puede variar en rangos de 0.04-0.21% para betacianinas y 0.02-0.14% para betaxantinas. Estos cambios son debido a las diversas variedades de cultivo que existen (Azeredo, 2009).

2.4.2.1 Efectos benéficos en la salud

Además de su ya conocido papel en la industria alimentaria, como colorante natural (rojo betabel, E-162). Estos compuestos antioxidantes han llamado la atención debido a los efectos en la salud, que podrían promover si forman parte regular de la alimentación. De tal manera que, la población podría beneficiarse del consumo frecuente de productos ricos en betalaínas (Rahimi *et al.*, 2018). Algunos efectos atribuidos a estos compuestos incluyen:

- La capacidad de neutralizar los radicales libres y con ello prevenir procesos oxidativos involucrados en ciertos padecimientos crónicos, además protegen contra trastornos vinculados al estrés oxidativo en el cuerpo humano (Escribano y Pedreño, 2010).
- La betanina y betanidina demostraron inhibir la peroxidación del ácido linoleico y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, utilizando concentraciones más bajas que otros antioxidantes como el α -tocoferol o la catequina (Kanner *et al.*, 2001).
- La betanina contenida en el jugo de betabel ha demostrado que disminuye significativamente la respuesta de insulina posprandial en la fase temprana (0-60 min) y una respuesta de glucosa significativamente menor, lo que puede contribuir a mejores resultados clínicos en la diabetes *mellitus* tipo 2 (Wootton-Beard *et al.*, 2014).

2.4.3 Nitratos y nitritos

El nitrato (NO_3^-) es un anión inorgánico presente en mayor cantidad en verduras de hojas verdes y en el betabel; este es fijado por bacterias y se forma a través del ciclo del nitrógeno. Por varios años se le considero como un contaminante implícito en alimentos y el agua. En cuanto al nitrito (NO_2^-), también es un producto derivado del ciclo del nitrógeno, se encuentra en menor cantidad en las verduras y la mayor exposición asociada a su consumo es mediante su uso en alimentos como aditivo para mitigar el deterioro y crecimiento bacteriano (Ashworth y Bescos, 2017; Habermeyer *et al.*, 2015).

A partir de la década de los 60s el consumo de nitratos y nitritos se asoció con el riesgo de padecer cáncer gastrointestinal. Sin embargo, estos compuestos en sí no son cancerígenos, excepto que se cumplan las condiciones que llevan a la formación de *N*-nitrosaminas endógenas en el organismo (Grosse *et al.*, 2006). Al día de hoy se sabe que los estudios que llevaron a la aseveración de que el nitrato y nitrito ingeridos pueden aumentar el riesgo de padecer cáncer, no contaron con la suficiente calidad y dichos reportes no concuerdan con los hallazgos epidemiológicos que asocian el consumo de frutas y vegetales con una mejor salud cardiovascular, bajas tasas de mortalidad y diferentes tipos de cáncer. Además, los estudios recientes en animales no han replicado tales resultados (Bryan *et al.*, 2012).

La evidencia actual nos indica que cuando el nitrato y nitrito de la dieta se convierten a óxido nítrico (NO); bien sea por la vía enterosalival nitrato-nitrito-óxido nítrico ó a partir de la L-arginina y la acción de las enzimas ON sintasas (Pagliano y Mester, 2019), esta molécula puede propiciar diversos efectos fisiológicos en el organismo como:

- Regula varios procesos del sistema cardiovascular: tono vascular, función cardíaca, agregación plaquetaria y permeabilidad vascular (Moreno *et al.*, 2015).

- Disminución de la presión arterial mejorando la función endotelial y la agregación plaquetaria, esto ha sido demostrado tras el consumo de jugo de betabel (Webb *et al.*, 2008).
- En el ejercicio físico aeróbico facilita el transporte de oxígeno, lo que disminuye el consumo máximo de oxígeno (VO₂). Esto es de importancia, ya que durante la actividad física puede existir un aumento hasta del 80% en la demanda de O₂ (Walle, 2017).
- Mayor transporte de glucosa a los músculos que lo demanden, a través de la regulación del flujo sanguíneo. Además, el óxido nítrico también ha demostrado aumentar la captación de glucosa hacia los transportadores GLUT-4 (Walle, 2017).

2.6 Fibra dietética

Considerando las distintas definiciones que existen de fibra dietética, esta se puede especificar como: aquel grupo de polímeros y oligómeros de carbohidratos que escapan al proceso de digestión en el intestino delgado y pasan al intestino grueso, donde la microbiota bacteriana los fermenta de manera parcial o completa (Jones, 2013). Dependiendo de la solubilidad en agua podemos clasificarla en dos tipos: fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insoluble (FDI) (DeVries *et al.*, 2001).

El concepto de “fibra dietética antioxidante” fue introducido por primera vez por Saura-Calixto (1998) y se refiere a aquel material vegetal que tiene asociado a la matriz de la fibra, compuestos bioactivos con apreciable capacidad antioxidante. Desde el enfoque nutricional, este material tiene la ventaja de conservar los compuestos bioactivos intrínsecos en el vegetal. Alrededor del 50 % del contenido de antioxidantes dietéticos totales, llegan a colon unidos a la fibra dietética donde por acción de la microbiota bacteriana, son liberados y producen una serie de metabolitos benéficos y un ambiente antioxidante (Saura-Calixto, 2011). Estos

componentes, al no ser aislados conservan el impacto sinérgico de ambos y se evita la pérdida de la actividad biológica (Saura-Calixto, 1998).

La fibra dietética ejerce diversos efectos fisiológicos importantes en el organismo, entre los cuales destacan:

- Reduce la concentración de triglicéridos y colesterol total en plasma, debido a una serie combinada de efectos, como la disminución de la velocidad del tránsito intestinal, la reducción en la absorción de lípidos y colesterol, el incremento de la síntesis de ácidos biliares a partir del colesterol y su excreción en las deposiciones (Hsu *et al.*, 2006).
- Reduce la respuesta glucémica e insulinémica, debido al incremento en la viscosidad del quimo (Jenkins *et al.*, 1978).
- La fibra soluble modifica la función en el intestino, disminuyendo la velocidad de tránsito intestinal, lo que provoca una lenta absorción de nutrientes y un efecto de saciedad (Baer *et al.*, 1997; Rebello *et al.*, 2016).
- Aumenta tanto el volumen fecal y la frecuencia de evacuaciones, evitando así el estreñimiento (Jie *et al.*, 2000).

2.7 Bioaccesibilidad y factores que la afectan

La bioaccesibilidad se define como la cantidad de un compuesto bioactivo que ha sido liberado de la matriz alimentaria y está disponible para ser absorbido a través del tracto gastrointestinal. De esta manera, los compuestos bioactivos que hayan sido liberados de la matriz del alimento tanto en el intestino delgado como en el intestino grueso, estarán eventualmente biodisponibles y podrán ejercer sus efectos fisiológicos en el organismo. Sin embargo, la bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes en un alimento está limitada debido a la inestabilidad de la molécula en el entorno digestivo, el pH y la degradación que sufren por las bacterias en el intestino (Rein *et al.*, 2012).

Tesoriere *et al.*, en 2008, en un estudio *in vitro* simularon una prueba oral, de digestión gástrica y del intestino delgado. Investigaron la estabilidad de las

betalaínas en el tracto gastrointestinal y su bioaccesibilidad, a partir de varias fuentes de alimentos (fruta del cactus, jugo de fruta del cactus, betabel crudo, betabel cocido al vapor, jugo de betabel y mermelada de betabel casera) y extractos purificados. Los resultados indican que, la indicaxantina sufre una pérdida del 20% durante la digestión gástrica, la vulgaxantina se ve degradada a través de todas las fases de la digestión con una pérdida total del 70%. Mientras que betanina e isobetanina no se ven afectadas durante la digestión gástrica, sin embargo ambas disminuyen en un 50% durante la digestión en el intestino delgado, siendo mayor la pérdida cuando se trata del jugo y la mermelada (85% y 70% respectivamente), por lo que la matriz alimentaria protege a los compuestos antioxidantes. Además, los compuestos de betalainas en los alimentos fueron degradados por las enzimas glucosidasa y la enzima pancreática amilasa.

2.8 Geles de carboximetilcelulosa (CMC)

Actualmente se están buscando maneras de hacer alimentos alternativos a partir de los subproductos del procesamiento de frutas y vegetales, que no solo sean aceptables y saludables para la población, sino que también se brinde protección y mejore la bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes naturalmente presentes en el mismo. La carboximetilcelulosa (CMC) es un hidrocoloide que ha sido evaluado por Morgado *et al.*, (2016), donde compararon la bioaccesibilidad *in vitro* de los antioxidantes y nitrato de jugo de betabel incorporado a esta matriz, con el jugo de betabel exento de CMC. Los resultados indican que la CMC protege a los antioxidantes y nitrato contenidos en el gel, causando una resistencia a las enzimas gástricas y consecuentemente la mejora de bioaccesibilidad.

Además los alimentos en forma de gel tienden a tener mayores concentraciones de nutrientes en un volumen reducido, lo que favorece un mayor acceso de los nutrientes de la dieta a las células. Adicionalmente, tienen las ventajas tecnológicas de ser fáciles de almacenar a temperatura ambiente, fáciles de llevar y fáciles de ingerir y tolerar (Maarit *et al.*, 2013; Morgado *et al.*, 2016).

2.8.1 Aplicaciones de carboximetilcelulosa

Hoy en día, los polisacáridos son considerados candidatos prometedores, como materiales naturales renovables debido a su conducta termoplástica, gran cantidad y bajo costo. También son materiales comestibles, que ofrecen una mejor apariencia visual, baja contaminación microbiana que evita una pérdida significativa de nutrientes y mejora la calidad de los alimentos (Eichhorn *et al.*, 2010).

Específicamente, la carboximetilcelulosa (CMC), se ha utilizado en campos como la biomedicina e ingeniería de tejidos. Se ha agregado a formulaciones de medicamentos como Docestral (medicamento contra el cáncer) para aumentar su biodisponibilidad y estabilidad. Incluso, los geles de CMC han demostrado ser capaces de liberar el fármaco incorporado al pH correcto en el tejido deseado (Basta *et al.*, 2016). También, la carboximetilcelulosa se ha utilizado como material encapsulante en combinación con k-carragenina (k-Carr) para el suministro de probióticos al colon. Demostrando que esta mezcla (CMC/k-carragenina) protege con éxito a los probióticos frente a las condiciones adversas del tracto gastrointestinal y sales biliares (Dafe *et al.*, 2017).

II. JUSTIFICACIÓN

Durante el procesamiento de frutas y verduras, la industria alimentaria genera una gran cantidad de subproductos considerados generalmente como desechos o utilizados como biocombustible. El subproducto de la elaboración del jugo de betabel es un ejemplo de ello, el cual es un remanente de alto valor nutricional, cuya recuperación es económicamente rentable y puede ser explotado en la elaboración de suplementos que contengan fibra dietética, betalaínas, polifenoles y flavonoides.

Sin embargo, existen factores que afectan la estabilidad de sus antioxidantes, por lo que es necesaria una estrategia adecuada con la finalidad de protegerlos; esto se lograría mediante la incorporación del subproducto de betabel en geles de carboximetilcelulosa. Además, este producto alimenticio tendría el potencial de proporcionar una ingesta de fibra dietética en la dieta habitual cercana a las recomendaciones actuales.

III. HIPÓTESIS

La incorporación de subproducto de betabel en un gel de CMC mejora la estabilidad de betalaínas, polifenoles y flavonoides en los diferentes pHs de la digestión gastrointestinal.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la estabilidad *in vitro* en los pHs de la digestión gastrointestinal de las betalaínas, polifenoles y flavonoides del gel enriquecido con subproducto de betabel en comparación con el subproducto en polvo.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la composición proximal, el perfil de compuestos antioxidantes y propiedades fisicoquímicas del subproducto de betabel.
- Formular un gel de CMC enriquecido con subproducto de betabel que contenga betalaínas, polifenoles, flavonoides y fibra.
- Evaluar *in vitro* el efecto del pH gastrointestinal en las betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides del gel enriquecido con subproducto de betabel y del subproducto en polvo.

V. METODOLOGÍA

5.1 Materiales químicos

Se utilizaron los siguientes reactivos: pepsina (250 U/mg), amiloglucosidasa (260 U/ml), pancreatina (4 x USP), α -Amylase (5 U/mg), Folin Ciocalteu; como estándares Trolox (antioxidante sintético de referencia), ácido gálico y catequina de la marca Sigma-Aldrich. También fueron utilizados los siguientes solventes y ácidos: metanol, etanol, acetona, butanol, hexano, ácido sulfúrico y ácido clorhídrico de la marca Meyer.

Además, se usaron los reactivos incluidos en el kit para la determinación de fibra dietaria total, fibra soluble e insoluble: TRIS (pH 7.4), fenol, glucosa oxidasa, peroxidasa, 4-Aminofenazona, α -amilasa y membranas de celulosa para diálisis de la marca Sigma-Aldrich.

5.2 Materia prima

5.2.1 Preparación de polvo de subproducto de betabel

Los betabeles fueron lavados, pelados y sometidos al proceso de extracción de jugo. Posteriormente, se recolectaron los remanentes de la pulpa del vegetal y las cáscaras después de la extracción de jugo. Este subproducto permaneció en congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su secado en un deshidratador de alimentos a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Después el subproducto se pulverizó utilizando un molino de café y se coló a través de un tamiz con un tamaño de partícula de 425 micras. Las muestras secas y pulverizadas fueron almacenadas en recipientes herméticos a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, protegiéndolos de la luz y el oxígeno para minimizar su oxidación (Amaya-Cruz *et al.*, 2015).

5.3 Caracterización química del subproducto de betabel

5.3.1 Determinación del contenido de humedad

Se empleo la técnica recomendada por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2000) para lo cual, se secó una capsula de porcelana con tapa en una estufa eléctrica a 105°C por 24 h, transcurrido ese tiempo la muestra se paso a un desecador hasta su enfriamiento y se pesó la capsula vacía con la tapa en una balanza analítica (Precisa Instruments Ltd. Modelo XT 120A, Suiza). Posteriormente se agrego 0.5 g de muestra a la capsula extendiéndola con uniformidad y se colocó en una estufa a 105°C por un lapso de 24 h. Después del secado la capsula con la tapa parcialmente cubierta se coloco en un desecador para enfriar y pesar de nuevo con la muestra seca.

Para el cálculo del porcentaje de humedad se aplico la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(W2 - W1)}{W1} \times 100$$

W1: Peso en gramos de la muestra antes del secado

W2: Peso en gramos de la muestra después del segundo secado

5.3.2 Determinación de cenizas

De acuerdo a la AOAC (2000), se colocó un crisol en mufla a 550°C durante 8 horas para asegurar que las impurezas en la superficie del crisol se quemem. Después fue transferido a un desecador por 1h y se peso en una balanza analítica (Precisa Instruments Ltd. Modelo XT 120A, Suiza). Posteriormente se agregó 0.5 g de muestra y el crisol con la muestra se llevo a la mufla (Felisa modelo FE-340, México) a 550°C por 24 h. Después del calentamiento se colocó en un desecador hasta su enfriamiento y finalmente el crisol que contenía la muestra fue pesado. El porcentaje de cenizas fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso de cenizas}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

5.3.3 Determinación de proteína

Se llevo a cabo mediante el método de Kjeldahl analizando las muestras del subproducto por triplicado. Se pesaron 0.5 g de subproducto en un tubo de digestión. Posteriormente se agregó el catalizador kjedahl a la muestra más 15 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se preparó un tubo que contenía las sustancias químicas anteriores, excepto la muestra (blanco). Los tubos se colocaran en el portatubos del digestor Kjeldahl (Foss, Modelo KT 200 Kjeltec™, Dinamarca) en el bloque de calentamiento y se calentaron hasta 420 °C, con un tiempo de digestión de 1.5 h. A continuación se dejaron enfriar los tubos y añadieron 80 ml de agua destilada. Se encendió la sección de destilación colocando el tubo de la digestión con la muestra y un matraz erlenmeyer que contenía 35 ml de H₃BO₃ al 4% con indicadores. Posteriormente se dosificaron 60 ml de NaOH 40% al tubo con muestra y se calentó por 5 min hasta que todo el NH₃ fue destilado. Para finalizar, se removió el matraz con el destilado y se lavo la punta del condensador. La titulación se realizo con una solución de H₂SO₄ 0.4454 N. El contenido de proteína total, se calculo con la siguiente fórmula:

$$\text{Proteína (\%)} = (A-B) \times N \times 14.007 \times 6.25$$

A= volumen (ml) gastados de H₂SO₄ en la muestra

B= volumen (ml) gastados de H₂SO₄ en el blanco

N= normalidad de H₂SO₄

14.007= peso atómico del nitrógeno

6.25= factor de conversión proteína nitrógeno

5.3.4 Determinación de grasa

Para determinar la cantidad de grasa en el subproducto de betabel, se utilizo el método Soxhlet. Primeramente se pesaron por triplicado 0.5 g de polvo de subproducto en papel filtro Whatman no. 4 y se colocaron en sus respectivos

dedales de celulosa. A cada taza previamente tarada se agregaron 75 ml de hexano como solvente de extracción. Las muestras contenidas en los dedales de celulosa y las tazas se colocaron en el equipo Soxhlet para realizar la extracción de lípidos a 140 °C durante 75 min. Finalizado el proceso, las tazas que contenían la grasa extraída se colocaron durante 30 min en la estufa a 50 °C para eliminar el solvente residual. Después del calentamiento las tazas se pusieron en un desecador hasta su enfriamiento y posteriormente fueron pesadas. El porcentaje de grasa fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Grasa (\%)} = \frac{(\text{Taza + grasa}) - (\text{Taza vacía})}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

5.3.5 Determinación de fibra dietética total

La determinación del contenido de fibra dietética se realizó siguiendo la metodología de la AOAC (2000). Se peso 1 g de muestra seca del subproducto por triplicado en una balanza analítica (Precisa Instruments Ltd. Modelo XT 120A, Suiza) y se sometió a una digestión enzimática con α -amilasa termoestable, proteasa y amiloglucosidasa. La fibra fue precipitada adicionando cuatro volúmenes de etanol. El residuo total se filtro y se lavo con etanol al 78%, etanol al 95% y acetona. Posteriormente el residuo se seco a 70 °C por 12h; después del secado el residuo fue pesado. La fibra dietética total (FDT) es igual a:

$$\text{FDT} = (\text{Peso del residuo} - P - A) / (\text{Peso de la muestra}) * 100$$

Peso del residuo = promedio de los pesos (mg) para el triplicado de muestras determinadas.

P y A = pesos (mg) de proteína y ceniza respectivamente

Peso de la muestra = promedio de peso (mg) de las 3 muestras tomadas.

5.3.6 Determinación de fibra dietética insoluble y soluble

Para cuantificar la fibra insoluble; después de la digestión enzimática con α -amilasa termoestable, proteasa y amiloglucosidasa, las muestras fueron filtradas a través de papel filtro Whatman No.4. Esta fracción corresponde a la fibra insoluble. Los filtrados obtenidos siguieron la misma metodología descrita anteriormente para determinar la fibra dietética total, la fracción resultante corresponde a la fibra soluble. Ambas fracciones se secaron en estufa a 70 °C por 12h y cuantificaron gravimétricamente.

5.3.7 Determinación de minerales

En el polvo de subproducto de betabel se determinaron los minerales: magnesio, calcio, cobre y zinc, mediante el método analítico de espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer, 1996). Mientras que el fósforo fue cuantificado por medio de espectrofotometría (Drummond y Maher, 1995).

5.3.8 Determinación del valor energético

Para determinar la cantidad de energía que aporta el polvo de subproducto de betabel, se realizó la combustión completa de la muestra (1 g) en un calorímetro isoperibólico. Además, por medio del sistema Atwater se calculó dicho contenido energético, considerándose el valor energético de cada macronutriente: proteína (1 g = 4 kcal), carbohidrato (1 g = 4) y grasa (1 g = 9 kcal).

5.4 Extracción y cuantificación de betalaínas, polifenoles, flavonoides, nitratos y nitritos en subproducto de betabel en polvo

5.4.1 Extracción de betalaínas

Para la extracción de betalaínas, se homogenizaron 0.5 g de muestra de subproducto de betabel con 5 ml de agua destilada. Agitándose la muestra durante 2.5h en un agitador orbital. Posteriormente, la mezcla se sometió a una centrifugación durante 10 minutos a 6000 rpm y se recuperó el sobrenadante para la cuantificación de betalaínas (Costa *et al.*, 2017).

5.4.2 Determinación de betalaínas

El contenido de betacianinas y betaxantinas se cuantifico usando la metodología descrita por Castellanos-Santiago y Yahia (2008), mediante la absorbancia de los extractos de betalaínas a 538 y 483 nm en un espectrofotómetro. Para la conversión de las unidades de absorbancia en unidades de concentración se utilizo la siguiente fórmula:

$$B\left(\frac{mg}{g}\right) = \frac{A * FD * PM * V}{\epsilon * P * L}$$

Dónde:

B= betacianinas o betaxantinas

A= absorbancia a 538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantinas

FD= factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro

PM= peso molecular (Betanina = 550 g/mol e Indicaxantina = 308 g/mol)

V= volumen del extracto

ϵ = coeficiente de extinción molar (Betanina = 60 000 L/mol•cm, e Indicaxantina = 48 000 L/mol•cm)

L= longitud de la celda

5.4.3 Extracción de polifenoles y flavonoides

Para la extracción de polifenoles se utilizo el procedimiento descrito por García-Cruz *et al.*, (2012). Se mezclaron 0.05 g del polvo seco con 2.5 ml de una solución de metanol acuoso al 50% (V/V). La mezcla se ajustó a pH 2 con HCl y se agitó por 60 min en un agitador horizontal a temperatura ambiente y en oscuridad. Posteriormente se centrifugo a 4000 G durante 10 min en una centrífuga y se recupero el sobrenadante. El residuo fue sometido a una segunda extracción, agregándose 2.5 ml de una solución acuosa de acetona al 70% (V/V) y se

centrifugó a 3000 G por 10 min. Los sobrenadantes obtenidos se juntaron y fueron almacenadas en viales color ámbar para su análisis.

5.4.4 Determinación de fenoles totales

La cantidad de fenoles solubles totales en los extractos se determinó espectrofotométricamente de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado por Singleton *et al.*, (1998). La mezcla de reacción se preparo mezclando 0.1 ml de solución acuosa (concentración 1 mg/ml) del extracto, 7.9 mL de agua destilada, 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1.5 ml de carbonato de sodio al 20%. Después de 2 h, se leyó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro, frente al control que se preparo de manera similar, reemplazando el extracto con agua destilada. El contenido fenólico total, fue expresado en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de subproducto seco, usando la curva de calibración del estándar de ácido gálico.

5.4.5 Determinación de flavonoides

Los flavonoides totales se determinaron usando la metodología descrita por Zhishen *et al.* (1999). Se añadió una alícuota (1 ml) de extracto (concentración 1 mg/ml) a un matraz volumétrico de 10 ml que contenía 4 ml de agua destilada. En el matraz, se añadieron 0.3 ml de NaNO_2 al 5% y 5 minutos más tarde se agregaron 0.3 ml de AlCl_3 al 10%. Después de 6 minutos, se añadieron 2 ml de solución de NaOH 1M y el volumen total se completo hasta 10 ml con agua destilada. La solución fue mezclada y la absorbancia se midió a 510 nm frente al control, preparado de la misma manera solo reemplazando el extracto por agua destilada. El contenido total de flavonoides se expreso como mg de equivalentes de catequina (RE) por g de subproducto seco, utilizando la curva de calibración del estándar de catequina.

5.4.6 Extracción de nitratos y nitritos

Para la extracción de nitratos y nitritos del subproducto de betabel en polvo se siguió la metodología descrita por Morgado *et al.* en 2016; la muestra de polvo se

peso y fue diluida en agua destilada, posteriormente se centrifugó a 14 000 rpm durante 10 min recuperándose el sobrenadante para la cuantificación de nitratos y nitritos.

5.4.7 Determinación de de nitratos y nitritos

El análisis de nitratos se llevo a cabo en una microplaca de 96 pocillos, primeramente se colocaron 100 µl del sobrenadante de la muestra, seguido de 100 µl de VCL₃ al 5%, 50 µl de naftil-etil-niamida y 50 µl de sulfanilamida. Después de 45 min de reposo en oscuridad, la absorbancia de las muestras se midió frente al control, preparado de la misma manera solo reemplazando el sobrenadante por agua destilada. Para determinar los nitritos se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente, con la excepción de que no se agregó VCL₃ al 5%. El contenido total de nitratos y nitritos se expreso como mg de equivalentes de NaNO₃ y NaNO₂ por g de polvo seco.

5.5 Propiedades fisicoquímicas de las muestras en polvo

5.5.1 pH

El pH del subproducto en polvo se midió en una solución con agua destilada a una concentración del 10% y 1% (p/v) de polvo. La solución fue filtrada y utilizando un potenciómetro previamente calibrado se midió el pH (Costa *et al.*, 2017).

5.5.2 Capacidad de absorción de agua (CAA) y capacidad de absorción de aceite (CAa)

Para medir la capacidad de absorción de agua (CAA), se pesó un tubo de centrífuga y se agregó 1 g de muestra con 30 ml de agua; esto se dejó reposar 30 min agitándolo cada 30 segundos. A continuación fue centrifugado a 2500 rpm por 10 min. El sobrenadante se desechó y se pesó el residuo. Se aplicó la siguiente fórmula para calcular el valor de CAA:

CAA= [(peso del tubo + sedimento) – (peso del tubo + peso de muestra)]/peso de muestra]

Para medir la capacidad de absorción de aceite (CAa) se utilizó la misma metodología que para CAA, excepto que en lugar de utilizarse agua se utilizó aceite de maíz comercial (Sathe y Salunkhe, 1981).

5.6 Elaboración del gel de carboximetilcelulosa

Se realizó de acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización del subproducto de betabel, probándose diferentes concentraciones de CMC y del polvo de betabel, partiendo de la concentración probada por Morgado *et al.*, (2016). En base a lo cual también se seleccionaron y evaluaron los aditivos que se adicionaron al producto, así como demás ingredientes (Anexo 1). Antes de someterlos a las incubaciones en los diferentes pHs se cuantificaron las betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides presentes en los geles de CMC.

5.7 Evaluación *in vitro* de los pHs gastrointestinales en betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides del gel de CMC enriquecido con subproducto y del subproducto de betabel en polvo

Con el fin de determinar el efecto de los diferentes pHs gastrointestinales en betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides en el gel enriquecido con subproducto de betabel en comparación con el subproducto en presentación de polvo, se simuló tres pHs de una digestión gastrointestinal. Se siguió la metodología descrita por Solario-Godiño *et al.* (2017) la cual está validada para evaluar la bioaccesibilidad de polifenoles en alimentos.

Previamente se preparó el gel de CMC al 3% (w/v); integrándose paulatinamente la carboximetilcelulosa al agua destilada en un vaso de precipitados con agitación a temperatura ambiente hasta su total disolución. Posteriormente, en 17ml del gel de CMC se incorporaron 10 ml de una solución acuosa que contenía subproducto de betabel en polvo al 1% (w/v). Para las muestras que no contenían el gel de CMC, este fue sustituido por agua destilada en la misma proporción.

Después, las muestras de los geles de CMC enriquecidos con el subproducto de betabel en polvo y las muestras sin el gel de CMC fueron incubadas con tres pHs distintos: pH de 1.5 (temperatura de 40 °C, por 1 h), pH de 7.5 (temperatura de 37 ° C, durante 6 h) y pH de 6.9, (temperatura de 37 ° C durante 16 h), cada muestra sometida a incubación fue independiente una de la otra. Al final de cada incubación, las muestras se centrifugaron dos veces 30 min a 9500 rpm y el sobrenadante se separó del residuo para su análisis de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides de acuerdo a las técnicas anteriormente descritas. Este sobrenadante corresponde a la fracción de polifenoles, betalaínas y flavonoides bioaccesibles en el intestino delgado y aquellos asociados a la fibra dietética soluble.

Los polifenoles, betalaínas y flavonoides en cada pH se expresaron como la cantidad del total de polifenoles, betalaínas y flavonoides medidos en las muestras iniciales.

5.8 Análisis estadístico

Para indicar las características químicas, valor energético, así como el gel enriquecido con subproducto de betabel se consideró la media \pm DE para los componentes analizados. Los datos resultantes de las incubaciones a distintos pHs fueron analizados empleando una PRUEBA t de Student para muestras independientes. Las diferencias con un valor de $P \leq 0.05$ se consideraron estadísticamente significativas. Los datos se presentan como la media \pm DE.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Caracterización química del subproducto de betabel y valor energético

Respecto al análisis proximal del subproducto de betabel en polvo, mediante el proceso de deshidratación aplicado se logro disminuir la humedad a un porcentaje de 4%, lo cual es importante debido a que con este proceso se reduce la actividad microbiana, se extiende la vida útil del subproducto y esta reportado que los compuestos de betalaínas son estables cuando el contenido de agua se reduce, por lo que se mitiga su degradación (Azeredo, 2009). Además, se concentra la cantidad de nutrientes y permite una mayor cantidad de subproducto almacenado en un espacio reducido. También se encontró que exhibe una baja cantidad de lípidos (0.30 %), lo cual lo hace menos propenso a sufrir el proceso de oxidación (Costa *et al.*, 2017). En cuanto a la cantidad de proteína cuantificada (12.15%), encontramos que es mayor en comparación con lo reportado para subproductos de zanahoria (6.21%), manzana (3.12%) y naranja (8.42%) (Sudha *et al.*, 2007; Figuerola *et al.*, 2005). Para el contenido de cenizas se obtuvo un porcentaje de 4.7%, mayor contenido que subproductos de manzana (0.56%-3.9%), naranja (2.6%-3.1%), mango (4.2%), piña (4.5%) y guayaba (2.5%) (Figuerola *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2012).

Respecto al contenido de fibra total, se obtuvo un 64.44%, comparando este resultado con los dos únicos estudios que reportan lo referente al subproducto de betabel, dicho valor está dentro de lo reportado por Shyamala y Jamuna en 2010 (60.86%) y Costa *et al.*, en 2017 (65.22%). Este resultado es debido a las partes del vegetal que contenía el subproducto, es decir, restos de la pulpa y cascara; componentes caracterizados por su alto contenido en fibra (Costa *et al.*, 2017). La cantidad de fibra insoluble fue tres veces mayor a la de fibra soluble, estos valores son de suma importancia debido a los diversos efectos asociados a su consumo: mejorar el perfil de lípidos; reduciendo los niveles de triglicéridos y colesterol total y aumentando la concentración de colesterol HDL, reducción de la respuesta

glucémica e insulinémica, mejora del tránsito intestinal y un efecto de saciedad tras su ingesta (Jie *et al.*, 2000; Hsu *et al.*, 2006; Rebolledo *et al.*, 2016).

En cuanto al contenido energético presente en el subproducto de betabel en polvo, en este trabajo se cuantificaron 364 kcal por cada 100 g de subproducto. Es decir, es la energía disponible tras el consumo humano a través de la digestión y absorción del subproducto.

Dirección General de Bibliotecas UNQ

Tabla 1. Composición proximal del subproducto de betabel en polvo

Información nutrimental	Por 100g
Contenido energético kj (kcal)	4.00±0.55
Proteína	12.15±0.02
Grasa	0.30±0.05
Carbohidratos	14.41±0.17
FDT	64.44±0.40
FDI	42.34± 0.11
FDS	22.10±0.07
Cenizas	4.7 ± 0.18
<i>Magnesio (mg)</i>	210±7.07
<i>Calcio (mg)</i>	161.5±6.36
<i>Fósforo (mg)</i>	75.68±2.00
<i>Cobre (mg)</i>	1.35±0.07
<i>Zinc (mg)</i>	1.13±0.04

FDT: Fibra dietética total, FDI: Fibra dietética insoluble, FDS: Fibra dietética soluble

6.2 Determinación de betalaínas, fenoles totales, flavonoides, nitratos y nitritos en subproducto de betabel en polvo

En cuanto a las determinaciones de antioxidantes en los extractos obtenidos a partir del subproducto de betabel, en la Tabla 2 podemos observar que el compuesto bioactivo encontrado en mayor cantidad corresponde a polifenoles, seguido de betalaínas y flavonoides. Comparando estos resultados con los encontrados por Vulic *et al.*, (2012); en donde determinaron el contenido de betalaínas (0.75-3.75 mg/g) en extractos obtenidos de diferentes variedades de subproducto de betabel, los obtenidos en el presente trabajo (5.68 mg/g) se encuentran por arriba del rango reportado por dichos autores. En otro estudio realizado por Costa *et al.*, (2017) obtienen una concentración mayor de betalaínas (80 mg/g), al optimizar las condiciones de secado del subproducto. Por ello, es importante mencionar que el contenido de betalaínas cambia de acuerdo a la variedad utilizada de la hortaliza (Azeredo, 2009). Además, estos resultados son afectados por la temperatura a la cual fue secado el subproducto, ya que las altas temperaturas degradan los compuestos betalaínicos (Gokhale y Lele, 2014). Todas estas variables pudieron afectar los distintos resultados obtenidos en los otros trabajos realizados.

Acerca de la cuantificación de nitratos (11.44 ± 0.47 mg/g NO_3^-), encontramos valores por debajo de los reportados en algunos polvos comerciales de vegetales como espinaca (22.82 ± 0.17 mg/g NO_3^-), kale (15.58 ± 0.27 mg/g NO_3^-) y betabel (14.37 ± 0.07 mg/g NO_3^-) y mayores a los informados en otros vegetales procesados como brócoli (1.81 ± 0.02 mg/g NO_3^-), alfalfa (1.01 ± 0.01 mg/g NO_3^-), cebada (0.61 ± 0.03 mg/g NO_3^-) y jugo de betabel (1.70 ± 0.01 mg/g NO_3^-) (Pagliano y Mester, 2019). Dichos resultados eran de esperarse debido a que los vegetales son la principal fuente de nitrato en la dieta, además el secado no degrada el nitrato inicialmente contenido en los vegetales frescos y consecuentemente al reducirse el contenido de agua, en el material seco la

cantidad de nitrato se potencia en comparación con el fresco (Santamaria, 2006; Prasad y Chetty, 2008).

Tabla 2. Compuestos bioactivos en subproducto de betabel en polvo.

Compuesto bioactivo	Contenido (mg/g)
Betalaínas totales	5.68±0.28
Betacianinas	3.32±0.33
Betaxantinas	2.36±0.41
Fenoles totales	6.59±0.37
Flavonoides	1.14±0.012
Nitratos	11.44±0.47
Nitritos	0.33 ±0.03

6.3 Determinación de capacidad de absorción de agua (CAA) y capacidad de absorción de aceite (CAa)

El polvo de subproducto de betabel presento una CAA (9.7 g de agua/ g de polvo) similar con lo reportado por Costa *et al.*, (2017) de 10.17 g de agua/g de polvo de betabel. Fue semejante con lo encontrado en polvos obtenidos a partir de otros subproductos, como el de manzana (8.39 g de agua/ g de polvo) (Sudha *et al.*, 2007) y naranja (8.71 g de agua/ g de polvo) (Crizel *et al.*, 2014). La CAA nos indica que este polvo puede ser utilizado como emulsionante, texturizante y para evitar la sinéresis en productos alimenticios. Referente a la CAa se obtuvo un resultado similar a lo informado por Costa *et al.*, (2017) con valores de 3.35 g de aceite/ g de polvo de subproducto de betabel. En comparación con lo reportado por Martinez *et al.*, (2012) para residuos de mango (1.6 g de aceite/ g de polvo), fruta de la pasión (0.9 g de aceite/ g de polvo), piña y guayaba (0.7 g de aceite/ g

de polvo), los hallados en este trabajo fueron mayores (2.9 g de aceite/ g de polvo) (Tabla 3).

Tabla 3. Capacidad de absorción de agua (CAA) y aceite (CAa)

	CAA	CAa
Polvo de subproducto de betabel	9.7 g de agua/ g de polvo	2.9 g de aceite/ g de polvo

6.4 Elaboración del gel de CMC

Los compuestos bioactivos presentes inicialmente en el gel de CMC, antes de ser sometidos a incubación en los distintos pHs, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Compuestos bioactivos iniciales del subproducto de betabel en polvo y del extracto incorporados en el gel de CMC.

Subproducto de betabel	Fenoles totales (mg GAE/g)	Betalaínas totales(mg/g)	Flavonoides (mg EC/g)
PB-CMC	6,40±0,20	5,10±0,19	1,15±0,32
EB-CMC	6,11±0,18	3,78±0,23	1,13±0,16

PB-CMC: subproducto de betabel en polvo + carboximetilcelulosa; EB-CMC: extracto de subproducto de betabel + carboximetilcelulosa; GAE, equivalentes de ácido gálico; EC, equivalentes de catequina.

6.5 Efecto del pH gastrointestinal en betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides en el gel de CMC enriquecido con subproducto y del subproducto de betabel en polvo

Los resultados de la cuantificación de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides después de ser sometidos a las incubaciones en los diferentes pHs se muestran en la Tabla 5. El objetivo principal de esta determinación fue evaluar si el

incorporar el subproducto de betabel en un gel de CMC propiciaba la estabilidad de los compuestos frente a los distintos pHs del tracto gastrointestinal.

En el caso de las betalaínas, se cuantificó significativamente una mayor cantidad de compuestos en el sobrenadante del subproducto de betabel incorporado al gel de CMC en los pHs de 7.5 (PB-CMC: $0,0242 \pm 0,000$ versus PB: $0,022 \pm 0,000$ mg BT/ml) y 6.9 (PB-CMC: $0,0187 \pm 0,0004$ versus PB: $0,0089 \pm 0,0005$ mg BT/ml), mientras que en el pH ácido de 1.5, no hubo diferencias entre ambas muestras. El cual es un resultado alentador, ya que se sabe las betalaínas sufren degradación cuando están en soluciones fuera de su rango de pH óptimo que comprende entre 3 y 6, de modo que limitaría su bioaccesibilidad y consecuentemente sus posibles efectos biológicos (Cejudo-Bastante *et al.*, 2016; Mancha *et al.*, 2019).

Los fenoles totales cuantificados en los sobrenadantes de pH 1.5 (PB-CMC: $0,4049 \pm 0,009$ versus PB: $0,2692 \pm 0,0148$ mg GAE /ml) y 7.5 (PB-CMC: $0,3324 \pm 0,0022$ versus PB: $0,296 \pm 0,0074$ mg GAE/ml) en el subproducto de betabel incorporado en gel de CMC fueron significativamente superiores en comparación con el subproducto en polvo sometido a incubación sin gel de CMC (Tabla 5). Efectos similares reportan Viuda-Martos *et al.*, (2017) donde en distintas matrices incorporaron polvo de bayas de maqui, en el que la carboximetilcelulosa destacó por obtener un mayor índice de recuperación de compuestos fenólicos tras una digestión gastrointestinal *in vitro* (Viuda-martos *et al.*, 2017).

Mientras que en el caso de los flavonoides, no se encontró diferencia significativa en los sobrenadantes de pHs 1.5 y 6.9 en ambas muestras (Tabla 5), pero si una mayor cantidad significativa de compuestos en el sobrenadante de pH 7.5 (PB-CMC: $0,1466 \pm 0,0059$ versus PB: $0,1195 \pm 0,0128$ mg EC/ml) del subproducto de betabel incorporado en gel de CMC. Estos resultados podrían sugerir que los flavonoides están fuertemente unidos a la matriz de la fibra alimentaria, lo que evitó el efecto del pH.

Los hallazgos encontrados, sugieren un posible efecto protector de la carboximetilcelulosa a los compuestos analizados frente a las condiciones de pH del medio gastrointestinal. Sin embargo, estos resultados solo se refieren a la fracción soluble de las muestras; es necesario considerar analizar la porción del pellet para tener una mayor comprensión del papel de la carboximetilcelulosa en los compuestos fenólicos, betalaínas y flavonoides en los pHs del medio digestivo.

Tabla 5. Cuantificación de betalaínas totales, fenoles totales y flavonoides de subproducto de betabel en diferentes pHs

Betalaínas totales (mg/ml)			
pH	PB-CMC	PB	P
1.5	0,0302 ± 0,0020	0,0276±0,0009	0,139
7.5	0,0242± 0,0007	0,022±0,0003	0,019
6.9	0,0187± 0,0004	0,0089±0,0005	0,001
Fenoles totales (mg GAE/ml)			
pH	PB-CMC	PB	P
1.5	1,0122±0,02321	0,6731±0,03695	0,000
7.5	0,8311±0,00565	0,7401±0,01855	0,009
6.9	0,5924±0,00252	0,6329±0,02081	0,076
Flavonoides (mg EC/ml)			
pH	PB-CMC	PB	P
1.5	0,3692±0,00842	0,3631±0,00552	0,491
7.5	0,3670±0,01411	0,2986±0,3199	0,049
6.9	0,2832±0,01508	0,2786±0,01038	0,588

PB-CMC: subproducto de betabel en polvo + carboximetilcelulosa; PB: polvo de subproducto de betabel; GAE, equivalentes de ácido gálico; EC, equivalentes de catequina.

VII. CONCLUSIONES

Mediante un proceso simple de secado y molido es posible obtener un polvo de subproducto de jugo de betabel con un bajo porcentaje de humedad, características nutricionales de valor como: proteínas, minerales, fibra dietética. Cantidades apreciables de compuestos bioactivos: betalaínas, polifenoles, flavonoides y nitratos y propiedades funcionales de retención de agua y aceite.

Con base en los resultados obtenidos, esta materia tiene aplicaciones potenciales como un ingrediente funcional y sustentable que puede ser incorporado en la formulación de alimentos como sustituto de grasas o en el desarrollo de productos alimenticios con baja densidad calórica como: geles, bebidas y yogures.

Por otro lado, en la búsqueda de un nuevo producto nutritivo y una estrategia innovadora para preservar los compuestos bioactivos en el subproducto de betabel, la utilización del biopolímero carboximetilcelulosa, resultó ser una interesante alternativa para la elaboración de geles que contengan esta materia considerada inicialmente como un desperdicio. Demostró que puede ejercer como una matriz protectora y acarreadora de betalaínas, polifenoles y flavonoides frente a las condiciones de pH del tracto gastrointestinal y de esta manera podría incrementar la bioaccesibilidad de sus compuestos bioactivos y consecuentemente sus posibles efectos en la salud y/o enfermedad.

Aunque esta investigación tuvo un enfoque *in vitro*, el cual solo es una emulación de condiciones *in vivo* con varias limitaciones, debe destacarse que da un soporte sólido para futuras investigaciones que respalden el desarrollo y la funcionalidad de nuevos productos e ingredientes.

VIII. REFERENCIAS

Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Agricultura Chemists (2000).

Amaya-Cruz, D. M., Rodríguez-González, S., Pérez-Ramírez, I. F., Loarca-Piña, G., Amaya-Llano, S., Gallegos-Corona, M. A., y Reynoso-Camacho, R. (2015). Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. *Journal of Functional Foods*, 17, 93-102.

Aoi, W., Naito, Y., y Yoshikawa, T. (2006). Exercise and functional foods. *Nutrition journal*, 5(1), 15.

Arts, I. C., y Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 317S-325S.

Ashworth, A., y Bescos, R. (2017). Dietary nitrate and blood pressure: evolution of a new nutrient?. *Nutrition research reviews*, 30(2), 208-219.

Azeredo, H. M. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International journal of food science y technology*, 44(12), 2365-2376.

Baer, D. J., Rumpler, W. V., Miles, C. W., y Fahey Jr, G. C. (1997). Dietary fiber decreases the metabolizable energy content and nutrient digestibility of mixed diets fed to humans. *The Journal of nutrition*, 127(4), 579-586.

Basta, A. H., El-Saied, H., El-Deftar, M. M., El-Henawy, A. A., El-Sheikh, H. H., Abdel-Shakour, E. H., y Hasanin, M. S. (2016). Properties of modified carboxymethyl cellulose and its use as bioactive compound. *Carbohydrate polymers*, 153, 641-651.

Bryan, N. S., Alexander, D. D., Coughlin, J. R., Milkowski, A. L., y Boffetta, P. (2012). Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: an updated review. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3646-3665.

Castellanos-Santiago, E., y Yahia, E. M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5758-5764.

Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N., Delgado, A., & Heredia, F. J. (2016). Impact of pH and temperature on the colour and betalain content of Colombian yellow pitaya peel (*Selenicereus megalanthus*). *Journal of food science and technology*, 53(5), 2405-2413.

Clements, W., Lee, S. R., y Bloomer, R. (2014). Nitrate ingestion: a review of the health and physical performance effects. *Nutrients*, 6(11), 5224-5264.

Clifford, T., Howatson, G., West, D., y Stevenson, E. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*, 7(4), 2801-2822.

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris). (2016). Suplementos Alimenticios. Octubre 11, 2018, de gob.mx Sitio web: <https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/suplementos-alimenticios-62063>

Crizel, T. D. M., Araujo, R. R. D., Rios, A. D. O., Rech, R., y Flôres, S. H. (2014). Orange fiber as a novel fat replacer in lemon ice cream. *Food Science and Technology*, 34(2), 332-340.

Dafe, A., Etemadi, H., Zarredar, H., y Mahdavinia, G. R. (2017). Development of novel carboxymethyl cellulose/k-carrageenan blends as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *International journal of biological macromolecules*, 97, 299-307.

Dalla Costa, A. P., Hermes, V. S., de Oliveira Rios, A., y Flôres, S. H. (2017). Minimally processed beetroot waste as an alternative source to obtain functional ingredients. *Journal of food science and technology*, 54(7), 2050-2058.

DeVries, J. W. (2003). On defining dietary fibre. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 37-43.

Đilas, S., Čanadanović-Brunet, J., y Ćetković, G. (2009). By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ*, 15(4), 191-202.

Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., y Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91(3), 395-401.

Frank, T., Stintzing, F. C., Carle, R., Bitsch, I., Quaas, D., Straß, G., y Netzel, M. (2005). Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans. *Pharmacological Research*, 52(4), 290-297.

Galanakis, C. M. (Ed.). (2016). *Nutraceutical and functional food components: Effects of innovative processing techniques*. Academic Press.

Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M., y Dahmane, R. (2014). The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.

Gokhale, S. V., y Lele, S. S. (2014). Betalain Content and Antioxidant Activity of *Beta vulgaris*: Effect of Hot Air Convective Drying and Storage. *Journal of food processing and preservation*, 38(1), 585-590.

Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., Ghissassi, F. E., & Cogliano, V. (2006). Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *Lancet Oncology*, 7(8), 628-629.

Habermeyer, M., Roth, A., Guth, S., Diel, P., Engel, K. H., Epe, B., y Knorr, D. (2015). Nitrate and nitrite in the diet: how to assess their benefit and risk for human health. *Molecular nutrition & food research*, 59(1), 106-128.

Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., y Hagerman, A. E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1785-1790.

Hsu, P. K., Chien, P. J., Chen, C. H., y Chau, C. F. (2006). Carrot insoluble fiber-rich fraction lowers lipid and cholesterol absorption in hamsters. *LWT-Food Science and Technology*, 39(4), 338-343.

Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Leeds, A. R., Gassull, M. A., Haisman, P., Dilawari, J., y Alberti, K. G. (1978). Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. *Br Med J*, 1(6124), 1392-1394.

Jie, Z., Bang-yao, L., Ming-Jie, X., Hai-wei, L., Zu-kang, Z., Ting-song, W., y Craig, S. A. (2000). Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people. *The American journal of clinical nutrition*, 72(6), 1503-1509.

Jones, J. M. (2013). Dietary fiber future directions: integrating new definitions and findings to inform nutrition research and communication. *Advances in Nutrition*, 4(1), 8-15.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., y Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.

Kanner, J., Harel, S., y Granit, R. (2001). Betalains a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 49(11), 5178-5185.

Kumar, S., Sharma, S., y Vasudeva, N. (2017). Review on antioxidants and evaluation procedures. *Chinese journal of integrative medicine*, 1-12.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.

Liu, R. H. (2013). Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of food science*, 78(s1), A18-A25.

Mancha, M. A. F., Rentería, A. L., y Chávez, A. (2019). Estructura y estabilidad de las betalaínas. *Interciencia*, 44(6), 318-325.

Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., y Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food chemistry*, 135(3), 1520-1526.

Moreno, B., Soto, K., y González, D. (2015). El consumo de nitrato y su potencial efecto benéfico sobre la salud cardiovascular. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 199-205.

Morgado, M., de Oliveira, G. V., Vasconcellos, J., Monteiro, M. L., Conte-Junior, C., Pierucci, A. P. T. R., y Alvares, T. S. (2016). Development of a beetroot-based nutritional gel containing high content of bioaccessible dietary nitrate and antioxidants. *International journal of food sciences and nutrition*, 67(2), 153-160.

Mut-Salud, N., Álvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aránega, A., y Rodríguez-Serrano, F. (2016). Antioxidant intake and antitumor therapy: toward nutritional recommendations for optimal results. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Ninfali, P., y Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89, 188-199.

Netzel, M., Stintzing, F. C., Quaas, D., Strass, G., Carle, R., Bitsch, R., ... y Frank, T. (2005). Renal excretion of antioxidative constituents from red beet in humans. *Food research international*, 38(8-9), 1051-1058.

Pagliano, E., y Mester, Z. (2019). Determination of elevated levels of nitrate in vegetable powders by high-precision isotope dilution GC-MS. *Food chemistry*, 286, 710-714.

Prasad, S., & Chetty, A. A. (2008). Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of the effects of cooking and freezing. *Food Chemistry*, 106(2), 772-780.

Rahimi, P., Abedimanesh, S., Mesbah-Namin, S. A., y Ostadrahimi, A. (2018). Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1-30.

Rebello, C. J., O'neil, C. E., y Greenway, F. L. (2015). Dietary fiber and satiety: the effects of oats on satiety. *Nutrition reviews*, 74(2), 131-147.

Rein, M. J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S. K., y da Silva Pinto, M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British journal of clinical pharmacology*, 75(3), 588-602.

Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10-17.

Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4303-4306.

Saura-Calixto, F. (2010). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 43-49.

Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goni, I., y Bravo, L. (2000). *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 48(8), 3342-3347.

Serafini, M., Laranjinha, J. A., Almeida, L. M., y Maiani, G. (2000). Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 11(11-12), 585-590.

Shyamala, B. N., y Jamuna, P. (2010). Nutritional Content and Antioxidant Properties of Pulp Waste from *Daucus carota* and *Beta vulgaris*. *Malaysian journal of nutrition*, 16(3).

Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.

Strack, D., Vogt, T., y Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62(3), 247-269.

Sudha, M. L., Baskaran, V., y Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food chemistry*, 104(2), 686-692.

Tesoriere, L., Fazzari, M., Angileri, F., Gentile, C., y Livrea, M. A. (2008). *In vitro* digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(22), 10487-10492.

United States Department of Agriculture Agricultural (USDA). (2018). Food Composition Databases. Vegetables and Vegetable Products. Beet.. Mayo 16, 2018, de United States Department of Agriculture Agricultural Research Service

Sitio

web:

<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/11080?n1=%7BQv%3D1%7D&fgcd=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=&measureby=&Qv=1&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>

Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., & Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceúticos y foshu: ¿Vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204.

Van De Walle, G. P., y Vukovich, M. D. (2017). The effect of nitrate supplementation on exercise tolerance and performance: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 32(6), 1796-1808.

Vattem, D. A., & Maitin, V. (Eds.). (2015). *Functional foods, nutraceuticals and natural products: concepts and applications*. DEStech Publications, Inc.

Vieira Teixeira da Silva, D., dos Santos Baião, D., de Oliveira Silva, F., Alves, G., Perrone, D., Mere Del Aguila, E., y M Flosi Paschoalin, V. (2019). Betanin, a Natural Food Additive: Stability, Bioavailability, Antioxidant and Preservative Ability Assessments. *Molecules*, 24(3), 458.

Vulić, J. J., Čebović, T. N., Čanadanović-Brunet, J. M., Četković, G. S., Čanadanović, V. M., Djilas, S. M., y Šaponjac, V. T. T. (2014). *In vivo* and *in vitro* antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 6, 168-175.

Webb, A. J., Patel, N., Loukogeorgakis, S., Okorie, M., Aboud, Z., Misra, S., ... & MacAllister, R. (2008). Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*, 51(3), 784-790.

Wildman, R., y Keller, M. (2016). Nutraceuticals and functional foods. Nutraceuticals.

Wootton-Beard, P. C., Brandt, K., Fell, D., Warner, S., y Ryan, L. (2014). Effects of a beetroot juice with high neobetanin content on the early-phase insulin response in healthy volunteers. Journal of nutritional science, 3.

Zhishen, J., Mengcheng, T., y Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4), 555-559.

Dirección General de Bibliotecas UAO

IX. ANEXOS

Anexo 1. Formulaciones probadas para el desarrollo del gel de CMC con el subproducto de betabel incorporado.

Subproducto %	CMC %	Ácido ascórbico %	Benzoato de sodio %	Edulcorante %	Saborizante %
2.5	2.8	0.2	0.03	1.25	0.3
5	2.8	0.2	0.03	1.25	0.3
2.5	2.4	0.2	0.03	1.25	0.3
5	2.4	0.2	0.03	1.25	0.3
2.5	2	0.2	0.03	1.25	0.3
5	2	0.2	0.03	1.25	0.3