

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)**

**“Desarrollo de bebidas de frutos rojos y cítricos
enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos
extraíbles y sus beneficios sobre la obesidad”**

Tesis

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

Presenta:

Q.A. Ana María Sotelo González

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
PROPAC

“Desarrollo de bebidas de frutos rojos y cítricos enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles y sus beneficios sobre la obesidad”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

Q.A. Ana María Sotelo González

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Secretario

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Vocal

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Suplente

Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Agosto 2020
México

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

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.



Ana María Sotelo González

DEDICATORIAS

A Dios por darme la oportunidad de alcanzar este sueño, por bendecirme, acompañarme, guiarme y fortalecerme en cada día de mi vida.

A Jordy por su apoyo incondicional, motivación, amor y compañía durante éstos dos años y porque de él aprendí que las adversidades no son más grandes que las ganas de cumplir una meta. Gracias por estar a mi lado.

A mis padres Georgina y Javier y a mis hermanas Laura y Clara, porque siempre confiaron en mí y a pesar de la distancia, su amor y cariño nunca me hicieron falta durante este tiempo.

A mi abuelito Crispín Sotelo Cárdenas que siempre me alentó a hacer las cosas de la mejor manera posible y sin tener miedo a fallar.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico necesario durante este proyecto de investigación.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos por la oportunidad de realizar mis estudios, así como la preparación y enseñanza brindadas.

A la Dra Rosalía Reynoso Camacho por su apoyo constante, dirección y recomendaciones dentro de mi formación académica y en el proyecto realizado.

A la Dra Iza Fernanda Pérez Ramírez por su orientación, apoyo y disponibilidad para el desarrollo del proyecto de investigación.

A los miembros de mi comité evaluador: Dr. Eduardo Castaño Tostado, Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña y la Dra. Minerva Ramos Gómez por cada una de sus observaciones y recomendaciones aportadas en el trabajo de tesis.

A la Dra Ma. Estela Vázquez Barrios, Dr. Francisco Javier Luna Vázquez y al Dr. Miguel Ángel Martínez Maldonado, por el apoyo y el préstamo de los equipos requeridos durante la experimentación realizada dentro de las instalaciones de la Facultad de Química.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: Nayely González Buenrostro, Haiku Daniel de Jesús Gómez Velázquez, Alexandro Escobar Ortiz, Yuridia Martínez Meza, Gabriela Ayala García, Jorge Luis Copado Romero, Julissa Haydee Soto Infante, Mariana Murillo Montoya e Isis Eunice Pascacio Martínez, por su apoyo incondicional en cada momento.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Obesidad y sobrepeso.....	2
2.1.1 Epidemiología.....	2
2.1.2 Consumo excesivo de bebidas azucaradas como factor de riesgo en la obesidad.....	3
2.1.3 Prevención y tratamiento de la obesidad.....	3
2.2 Compuestos polifenólicos y su clasificación	4
2.2.1 Compuestos polifenólicos de frutos rojos	4
2.2.2 Compuestos polifenólicos en frutos cítricos	5
2.3 Efectos benéficos de los frutos rojos sobre la obesidad	5
2.3.1 Fresa	5
2.3.2 Mora azul.....	7
2.4 Efectos benéficos de los frutos cítricos en la obesidad.....	9
2.4.1 Naranja.....	9
2.4.2 Mandarina	11
2.4.3 Toronja.....	12
2.5 Bebidas funcionales.....	14
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. OBJETIVOS	17
4.1 Objetivo general.....	17
4.2 Objetivos específicos.....	17

5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1 Materiales	18
5.1.1 Material vegetal	18
5.1.2 Material biológico.....	18
5.2 Métodos.....	18
5.2.1 Elaboración de decocciones de frutos rojos y cítricos y procesamiento de sus residuos	18
5.2.2 Caracterización de las propiedades físicas y químicas de las decocciones de frutos rojos y cítricos.....	20
5.2.3 Caracterización fitoquímica de las decocciones de frutos rojos y cítricos	21
5.2.3.1 Cuantificación de compuestos polifenólicos extraíbles simples	21
5.2.3.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos extraíbles poliméricos	22
5.2.4 Caracterización sensorial de las decocciones de frutos rojos y cítricos	23
5.2.5 Elaboración de bebidas a partir de las decocciones de frutos rojos y cítricos (bebidas control)	23
5.2.6 Prueba de aceptabilidad de sabor para bebidas control de frutos rojos y cítricos	24
5.2.7 Estudio de las condiciones de extracción de polifenoles totales de residuos de decocción de frutos rojos y cítricos.....	24
5.2.8 Elaboración de bebidas control y enriquecidas de las decocciones de fresa y mora azul.....	26
5.2.8.1 Bebidas control de fresa, mora azul y fresa-mora azul	26
5.2.8.2 Bebidas enriquecidas con extractos de residuos de decocción de fresa y mora azul.....	26

5.2.8.3 Prueba de comparación de pares para bebidas enriquecidas con extractos de residuos de decocciones	27
5.2.9 Caracterización de las propiedades físicas, químicas y fitoquímicas de las bebidas control y las bebidas enriquecidas de fresa y mora azul.....	27
5.2.9.1 Caracterización física y química.....	27
5.2.9.2 Caracterización fitoquímica	27
5.2.10 Evaluación del efecto de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles sobre la obesidad en un modelo animal	27
5.2.10.1 Inducción de obesidad y administración de tratamientos	27
5.2.10.2 Evaluación del control de la obesidad.....	29
5.2.10.3 Triglicéridos en sangre durante el tratamiento	30
5.3 Análisis estadístico.....	31
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
6.1 Caracterización física y química de las decocciones de frutos rojos y cítricos	32
6.2 Caracterización fitoquímica de las decocciones y sus residuos de frutos rojos y cítricos	34
6.3 Caracterización sensorial de las decocciones de frutos rojos y cítricos	38
6.4 Elaboración de bebidas control a partir de las decocciones de frutos rojos y cítricos	40
6.5 Prueba de aceptabilidad de sabor para bebidas control de frutos rojos y cítricos	41
6.6 Estudio de las condiciones de extracción de polifenoles totales de residuos de decocción de fresa y mora azul	44
6.7 Elaboración de bebidas control y enriquecidas de las decocciones de fresa y mora azul.....	56

6.8 Caracterización física, química y contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles de las bebidas control y bebidas enriquecidas de fresa y mora azul	58
6.8.1 Características físicas y químicas	58
6.8.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles.....	60
6.9 Evaluación del efecto de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles sobre un modelo <i>in vivo</i> de obesidad.....	62
6.9.1 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en el peso corporal de los animales en estudio	62
6.9.2 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en el consumo de alimento.....	65
6.9.3 Efecto en el volumen de bebida consumida por los animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas control y enriquecidas	66
6.9.4 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en los parámetros físicos	68
6.9.5 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en la concentración de triglicéridos en sangre	71
7. CONCLUSIONES.....	73
8. REFERENCIAS.....	74
9. ANEXOS	84
9.1 Análisis microbiológico de bebidas control y enriquecidas de decocción .	84
9.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos de extractos de residuos de decocción de frutos rojos	85
9.3 Formatos aplicados en las evaluaciones sensoriales	85

9.3.1 Evaluación CATA (Check-all-that-apply) para decocciones de frutos rojos y cítricos	85
9.3.2 Evaluación de aceptabilidad sensorial para bebidas de decocciones de frutos rojos y cítricos.....	86
9.3.3 Evaluación de comparación de pares de bebidas de decocciones de fresa y mora azul enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles	86

Dirección General de Bibliotecas UAG

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación del índice de masa corporal y circunferencia de cintura y riesgo de comorbilidades relacionadas a la obesidad	2
Cuadro 2. Efectos benéficos de los frutos rojos sobre la obesidad.....	9
Cuadro 3. Efectos benéficos de los frutos cítricos sobre la obesidad	13
Cuadro 4. Factores y niveles de la extracción de compuestos polifenólicos totales y proantocianidinas extraíbles de los residuos de decocción de frutos rojos y cítricos	25
Cuadro 5. Factores y niveles de extracción de compuestos polifenólicos y antocianinas totales de los residuos de decocción de frutos rojos y cítricos	25
Cuadro 6. Formulaciones de bebidas control de fresa, mora azul y fresa-mora azul	26
Cuadro 7. Contenido nutrimental de dietas aplicadas en el modelo biológico	29
Cuadro 8. Determinaciones de evaluación del control de la obesidad.....	30
Cuadro 9. Características físicas y químicas de decocciones de frutos rojos y cítricos	34
Cuadro 10. Contenido de polifenoles simples y poliméricos extraíbles de las decocciones de frutos rojos y cítricos.....	36
Cuadro 11. Cuento de panelistas para cada puntaje de evaluación de las bebidas de frutos rojos y cítricos.....	43
Cuadro 12. Coeficientes de regresión estimados y análisis de varianza de los modelos polinomiales de segundo orden ajustados para la extracción de polifenoles y proantocianidinas totales de los residuos de decocción de fresa y mora azul.....	46
Cuadro 13. Coeficientes de regresión estimados y análisis de varianza de los modelos polinomiales de segundo orden ajustados para la extracción de polifenoles y antocianinas totales de los residuos de decocción de fresa y mora azul.....	49
Cuadro 14. Respuestas de extracción de polifenoles y antocianinas totales de residuos de decocción de fresa a diferentes condiciones	55

Cuadro 15. Respuestas de extracción de polifenoles y antocianinas totales de residuos de decocción de mora azul a diferentes condiciones.....	55
Cuadro 16. Formulaciones de bebidas control y enriquecidas de decocciones de fresa y mora azul.....	57
Cuadro 17. Características físicas y químicas de bebidas control y enriquecidas con compuestos polifenólicos simples y poliméricos	59
Cuadro 18. Contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles de bebidas control y enriquecidas de fresa y mora azul.....	61
Cuadro 19. Monitoreo de parámetros físicos de las semanas 2, 10 y 18 de animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles	69

Dirección General de Bibliotecas UFG

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de experimentación general.....	19
Figura 2. Distribución de grupos de experimentación del modelo <i>in vivo</i>	28
Figura 3. Parámetros físicos en modelo <i>in vivo</i>	30
Figura 4. Perfilado sensorial Check-all-that-apply (CATA) de sabores de decocciones de frutos rojos y cítricos.....	39
Figura 5. Gráfico de mosaico para prueba de aceptabilidad de bebidas de frutos rojos y cítricos.	42
Figura 6. Gráfico de interacción de la temperatura y el tiempo con la concentración en la extracción de polifenoles totales de fresa y mora azul en los residuos de decocción.....	47
Figura 7. Factores de extracción de compuestos polifenólicos totales de residuos de decocción: temperatura, tiempo y concentración	51
Figura 8. Gráfico de interacción de la temperatura, tiempo y concentración en la extracción de antocianinas totales de fresa y mora azul en los residuos de decocción.....	52
Figura 9. Factores de extracción de antocianinas totales de residuos de decocción: temperatura, tiempo y concentración.	53
Figura 10. Preferencias de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles a partir de prueba de comparación de pares	57
Figura 11. Monitoreo de peso corporal de animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles	64
Figura 12. Consumo promedio de alimento de animales sanos y obesos durante el tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles.....	65
Figura 13. Volumen promedio de consumo de bebida de animales sanos y obesos durante el tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles.....	67

Figura 14. Triglicéridos en sangre de animales sanos y obesos al final del el
tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y
extraíbles.....71

Dirección General de Bibliotecas UAQ

RESUMEN

El consumo de frutos rojos y cítricos presenta beneficios en la obesidad. Las bebidas con estas frutas contienen polifenoles simples; sin embargo, los residuos de su procesamiento tienen mayor contenido de polifenoles simples y poliméricos. Por lo tanto, los objetivos del proyecto fueron elaborar bebidas con decocciones de frutas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles de los residuos de decocción y evaluar su efecto sobre el control de la obesidad en un modelo *in vivo*. Las características físicas, químicas, fitoquímicas y sensoriales se determinaron en las decocciones de fresa, mora azul, naranja, mandarina y toronja. Se prepararon bebidas con decocciones de frutos rojos y cítricos, sin embargo, debido a la baja aceptabilidad de las decocciones de cítricos, se utilizaron los frutos rojos para las bebidas. Posteriormente, se hizo una extracción de los residuos de decocción para obtener un extracto rico en polifenoles y antocianinas, y se midieron las propiedades físicas, químicas y polifenoles de las bebidas enriquecidas con el extracto de residuo de decocción. Finalmente, todas las bebidas se administraron a animales alimentados con dietas altas en grasa y fructosa, se midieron los parámetros físicos y triglicéridos sanguíneos de los mismos. El contenido total de polifenoles fue 51% mayor en decocciones de frutos rojos que en decocciones de cítricos. Las mejores condiciones de extracción de compuestos polifenólicos fueron 52.5 °C al 2 % (p/v) durante 1 h para el residuo de mora azul y 52.5 °C al 2 % (p/v) durante 3 h para el residuo de fresa. Las bebidas se elaboraron con decocciones de fresa, mora azul y fresa-mora azul y se enriquecieron con 15 % del extracto. Los resultados mostraron que las bebidas enriquecidas con el extracto no disminuyeron el peso corporal en los animales. No obstante, las bebidas de fresa y mora azul no enriquecidas disminuyeron la concentración de triglicéridos en sangre de los animales. En conclusión, en la decocción de frutos rojos se extraen compuestos polifenólicos, mientras que su residuo retiene una mayor concentración de polifenoles poliméricos, sin embargo, las bebidas enriquecidas no mostraron beneficios para el control de la obesidad de los animales.

Palabras clave: polifenoles, frutos rojos, cítricos, bebidas, decocción.

ABSTRACT

The consumption of berries and citrus fruits has benefits in obesity. Beverages with these fruits contain simple polyphenols; however, the residues from its processing have a higher content of simple and polymeric polyphenols. Therefore, the objectives of the project were to make beverages with fruit decoctions enriched with simple and polymeric extractable polyphenols from decoction residues and to evaluate its effect on the control of obesity in an *in vivo* model. The physical, chemical, phytochemical and sensory characteristics were determined in strawberry, blueberry, orange, mandarin, and grapefruit decoctions. Beverages with decoctions and residues of berries and citrus fruits were prepared, however, due to the low acceptability of citrus decoctions, berries were used for the beverages. Then, an extraction of decoction residues was made to obtain an extract rich in polyphenols and anthocyanins, and physical, chemical and polyphenol properties of enriched beverages with decoction residue extract were measured. Finally, all the beverages were administered to animals fed high fat and fructose diets, their physical parameters and blood triglycerides were measured. Total content of polyphenols was 51% higher in decoctions of berries than in citrus decoctions. The best extraction conditions for polyphenolic compounds were 52.5 °C at 2 % (w/v) for 1 h for the blueberry residue and 52.5 °C at 2 % (w/v) for 3 h for the strawberry residue. Beverages were made with strawberry, blueberry and strawberry-blueberry decoctions and were enriched with 15% of the extract. The results showed that enriched beverages with the extract did not decrease the body weight in the animals. However, strawberry and blueberry no-enriched beverages decreased the blood triglyceride concentration of the animals. In conclusion, polyphenolic compounds are extracted in berries and citrus fruits decoctions, while its residue retains a higher concentration of polymeric polyphenols, however, enriched beverages did not show benefits for the control of obesity in animals.

Keywords: berries, citrus, polyphenols, beverages, decoctions.

1. INTRODUCCIÓN

Durante el año 2018 el 75.2% de los adultos en México presentó problemas de sobrepeso y obesidad, así como un aumento de casos en personas jóvenes (ENSANUT, 2018). La obesidad consiste en una acumulación excesiva de grasa que puede ocasionar problemas en la salud. El exceso de peso corporal es consecuencia del exceso de consumo de calorías en comparación con las utilizadas por el cuerpo, las cuales se almacenan como tejido graso (Jiang et al., 2016). El consumo excesivo de bebidas azucaradas está relacionado con el aumento de muertes en adultos con problemas de obesidad, debido a su alto contenido de calorías y azúcares agregados (Singh et al., 2015).

Los frutos rojos como la fresa y mora azul representan una fuente importante de compuestos polifenólicos como antocianinas, ácido elágico, elagitaninos y proantocianidinas, los cuales han demostrado diferentes efectos anti-obesogénicos e hipolipidémicos en fresco (Istek y Gurbuz, 2017) o en bebidas (Basu et al., 2014). De igual forma, los frutos cítricos son matrices ricas en flavonoides como flavanonas, flavonas y flavonoles (Muscatello et al., 2018). El consumo de cítricos como naranja, mandarina y toronja en frutos frescos y jugos, disminuye el peso corporal y peso del tejido adiposo, así como la concentración de colesterol total y triglicéridos (Ding et al., 2013; Kim et al., 2018; Park et al., 2019).

La mayoría de los estudios han asociado los efectos benéficos a la salud con los polifenoles simples extraíbles; principalmente las antocianinas, por lo que los polifenoles poliméricos como las proantocianidinas también presentes han sido poco estudiados. Por otro lado, la extracción de compuestos bioactivos de diferentes residuos generados en la elaboración de jugos o bebidas de frutos ha tomado importancia, ya que pueden ser utilizados como ingredientes funcionales en el enriquecimiento de compuestos bioactivos en otros productos. Por lo que el objetivo del proyecto es elaborar bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles de decocciones y sus residuos de frutos rojos y cítricos para evaluar su efecto en un modelo *in vivo* de obesidad.

2. ANTECEDENTES

2.1 Obesidad y sobrepeso

El sobrepeso y la obesidad consisten en una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede afectar la salud. Uno de los indicadores de la relación entre el peso y la talla que se utiliza para la identificación del sobrepeso y obesidad es el índice de masa corporal (IMC) (OMS, 2020). El IMC en una persona se calcula dividiendo el peso corporal en kilos por el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2). Recientemente, también se ha empleado la circunferencia de cintura en diferentes estudios epidemiológicos y clínicos con respecto a la obesidad. En el Cuadro 1 se puede observar una clasificación del IMC y circunferencia de cintura respecto al riesgo de comorbilidades en la obesidad.

Cuadro 1. Clasificación del índice de masa corporal y circunferencia de cintura y riesgo de comorbilidades relacionadas a la obesidad

	IMC (kg/m^2) (OMS)		
Hombres y mujeres	18.5-24.9	25-29.9	≥ 30
Clasificación	Peso normal	Sobrepeso	Obesidad
Riesgo de comorbilidades	Bajo	Aumentado	Alto
	Circunferencia de cintura (cm)		
Hombres	<94	94-101.9	≥ 102
Mujeres	<80	80-87.9	≥ 88
Clasificación	Distribución normal de grasa	Acumulación central moderada de grasa	Acumulación central alta de grasa
Riesgo de comorbilidades	Bajo	Aumentado	Alto

IMC: Índice de Masa Corporal; OMS: Organización Mundial de la Salud.

Adaptado de Han y Lean, 2016.

2.1.1 Epidemiología

De acuerdo a los datos obtenidos en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en el 2018, en México el porcentaje de adultos mayores de 20 años con sobrepeso y obesidad fue de 75.2% (39.1% sobrepeso y 36.1% obesidad), aumentando un 71.3% con respecto al año 2012. También se identificó que la población de 12 a 19 años mostró sobrepeso en un 24.7% y obesidad en 15%, sobre todo en localidades urbanas. Finalmente, en ese mismo estudio se estimó que el 22.2% de la población de 0 a 4 años se identificó con riesgo de sobrepeso.

2.1.2 Consumo excesivo de bebidas azucaradas como factor de riesgo en la obesidad

La causa exacta del aumento de peso aún es desconocida, sin embargo, es probable que surja de una combinación compleja de factores ambientales y genéticos que afectan la forma en que el cuerpo regula el apetito y la velocidad a la que convierte los alimentos en energía. No obstante, es un hecho que el exceso de peso se gana al consumir un exceso de calorías en comparación con las utilizadas por el cuerpo, siendo este exceso de calorías almacenado como tejido graso (Jiang et al., 2016).

Las bebidas azucaradas incluyen principalmente bebidas sin alcohol carbonatadas o no, bebidas de frutas y bebidas para deportistas, que contienen una alta cantidad de calorías y de azúcares agregados con bajo aporte nutricional. El consumo de bebidas azucaradas se ha incrementado en diferentes regiones en las últimas décadas y esto representa un problema global de salud pública (Malik, 2017). Existen estudios que establecen la contribución de estas bebidas azucaradas en diferentes enfermedades crónicas degenerativas como la obesidad, debido al aumento de peso corporal y grasa visceral. En México se estimó que el 12% de las muertes en adultos por diabetes, enfermedades cardiovasculares y obesidad, se relacionaron con el consumo excesivo de azúcares agregados provenientes principalmente de bebidas azucaradas (Singh et al., 2015).

2.1.3 Prevención y tratamiento de la obesidad

Se han implementado algunas medidas de prevención como la disminución en la ingesta de alimentos con alto contenido de azúcares refinados, así como un mayor consumo de frutas y verduras como fuentes de fibra dietética y nutrimentos antioxidantes (NOM-043-SSA2-2012). El desarrollo de alimentos benéficos a la salud se ha centrado en utilizar estas matrices alimentarias para poder aprovechar sus componentes bioactivos como los compuestos polifenólicos, ya que se han

demostrado sus diferentes efectos anti-obesogénicos (Rodríguez-Pérez et al., 2019).

2.2 Compuestos polifenólicos y su clasificación

Existen cerca de 8000 compuestos polifenólicos comúnmente encontrados en frutas, vegetales, semillas, flores y hojas. Se clasifican en ácidos fenólicos y derivados, flavonoides, taninos, estilbenos, lignanos, quinonas y otros; de acuerdo al número de anillos fenólicos y a los elementos que los conforman (Antolak y Kregiel, 2017).

Los compuestos polifenólicos pueden ser extraíbles, los cuales se encuentran como sobrenadantes derivados de extracciones acuosas-orgánicas de los alimentos (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2015). Los polifenoles extraíbles pueden ser clasificados como polifenoles simples, que son de bajo peso molecular (monómeros a decámeros), los cuales pueden dividirse en estructuras simples como son ácidos fenólicos (libres o esterificados), antocianinas y flavonoides; y en polifenoles poliméricos, que son estructuras más complejas que a su vez se subdividen en proantocianidinas de bajo peso molecular (oligómeros de catequina y epicatequina con un grado de polimerización entre 2 y 10) y taninos hidrolizables como los elagitaninos y galotaninos (Arranz et al., 2010).

2.2.1 Compuestos polifenólicos de frutos rojos

Los frutos rojos como la fresa y mora azul son fuentes importantes de compuestos polifenólicos simples extraíbles, principalmente antocianinas, flavonoles y flavanoles, seguido de ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos); así como de proantocianidinas y taninos hidrolizables (elagitaninos y galotaninos) (Fotirić et al., 2019), que constituyen los polifenoles poliméricos.

Los residuos generados dentro de la industria de los alimentos presentan compuestos bioactivos, que aún permanecen después de haber sufrido algún tipo de procesamiento y por lo tanto pueden ser extraídos, caracterizados y utilizados por su potencial nutracéutico (Kammerer et al., 2014). Se ha reportado que la

distribución de polifenoles en frutos rojos consiste en un 10% localizados en la pulpa, del 28%-35% en la piel del fruto y el 60%-70% en las semillas (Heinonen, 2007). Es por ello que los residuos del proceso de prensa de los frutos rojos que contienen principalmente remanentes de pulpa, semillas y piel presentan un perfil importante de estos compuestos polifenólicos (Klavins et al., 2018).

2.2.2 Compuestos polifenólicos en frutos cítricos

Los frutos cítricos como naranja, mandarina y toronja también son matrices alimentarias ricas en compuestos como los flavonoides, siendo las flavanonas las principales, además de flavonas y flavonoles (Muscatello et al., 2018), que comprenden los polifenoles extraíbles simples. Existen pocos reportes sobre polifenoles poliméricos en frutos cítricos, sin embargo, se han identificado proantocianidinas extraíbles en residuos de decocciones de frutos cítricos de naranja, mandarina y toronja (Reynoso-Camacho et al., datos no publicados).

De la misma forma, dentro de los residuos de cítricos, que principalmente son cáscaras y semillas, se han identificado compuestos bioactivos como polifenoles (flavonoides, limonoides, flavanonas glicosiladas, y otros) y ácidos fenólicos (Ferreira et al., 2018).

La cantidad de polifenoles poliméricos recuperada en los residuos, así como de los polifenoles simples, sugiere que estas matrices pueden ser utilizadas como ingredientes funcionales, para poder mejorar el perfil fitoquímico de algunos productos como las bebidas elaboradas a partir de decocciones y/o infusiones. Esto debido a que las temperaturas de la decocción pueden degradar algunos compuestos termo-sensibles (He et al., 2016).

2.3 Efectos benéficos de los frutos rojos sobre la obesidad

2.3.1 Fresa

La fresa es un fruto rico en polifenoles, principalmente antocianinas, ácido elágico y elagitaninos, los cuales tienen propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias. Se han reportado diferentes efectos en el consumo de frutos frescos de fresas,

extractos, bebidas y subproductos de estas, relacionados con la mejora del perfil lipídico en suero (Cuadro 2).

Alvarez-Suarez y colaboradores (2014) reportaron un efecto benéfico en el perfil lipídico de voluntarios sanos que fueron tratados diariamente con 500 g de fresas durante un mes, reduciendo la concentración de colesterol total, colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) y niveles de triglicéridos, mientras que el colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad) se mantuvo sin cambios. Los resultados obtenidos fueron asociados al contenido de vitamina C (0.17g/día) y de antocianinas (307.59 mg/día), aunque estos efectos no fueron confirmados.

Por otro lado, se administraron diferentes extractos acuosos y etanólicos de fresa durante 4 semanas en ratas macho con diabetes inducida. Se observó una disminución de los niveles de LDL, VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) y triglicéridos en ratas administradas con extractos acuosos y extractos de agua-etanol; mientras que, los extractos etanólicos únicamente lograron disminuir LDL (Mandave et al., 2017). El posible mecanismo de acción que los autores proponen a estos beneficios es el aumento de la expresión hepática de *PPAR-γ* (receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma), proteína relacionada a diferentes vías metabólicas como la homeostasis de carbohidratos y lípidos. La activación de *PPAR-γ* estimula la β -oxidación de ácidos grasos, lo que disminuye el nivel de triglicéridos en suero.

En un estudio realizado en hombres y mujeres con adiposidad abdominal modificada y diferentes alteraciones del perfil lipídico, altos niveles de colesterol total, colesterol LDL y bajos niveles de HDL, se observó que aquellos que consumieron una bebida de fresa liofilizada (50 g fresa liofilizada) después de 12 semanas lograron disminuir la concentración de colesterol total y colesterol LDL (Basu et al., 2014). En este estudio no se asoció el efecto obtenido a algún compuesto en particular.

Existen reportes del efecto anti-obesogénico de matrices como los residuos obtenidos del procesamiento de la fresa, conocidos como orujos, constituidos por cáscaras, remanentes de pulpa y semillas. La suplementación de orujo de fresa (7.7%) en la dieta de animales alimentados con una dieta alta en fructosa durante 4 semanas, disminuyó la concentración de triglicéridos y colesterol total (Jaroslawska et al., 2011). Los autores atribuyen estos efectos no solo a los polifenoles del orujo de fresa, sino a la fibra soluble presente de la cual se han reportado sus efectos en el colesterol en hígado.

2.3.2 Mora azul

La mora azul es un fruto que ha adquirido especial importancia debido a su alta capacidad antioxidante atribuida a los compuestos que contiene como el ácido clorogénico, quercetina, kaempferol, proantocianidinas, resveratrol y vitamina C. Se han realizado algunos estudios con bebidas y extractos a partir de residuos que evalúan el efecto de estos en el peso corporal y en el metabolismo (Cuadro 2).

Istek y Gurbuz (2017) determinaron el efecto de consumo de mora azul en adultos con sobrepeso y obesidad durante 12 semanas llevando a cabo además una terapia de nutrición médica. La dieta establecida se siguió durante 3 semanas y después de las siguientes 6 semanas se eliminó una fuente de carbohidratos (1 porción de fruta) y se agregaron 50 g de moras azules a la dieta. En la semana 12 se observó una disminución en sus niveles de colesterol total y LDL.

Respecto a los extractos de mora azul, se evaluó la administración de dos dosis de extractos; una dosis baja (60 mg/kg peso corporal) y una dosis alta (150 mg/kg peso corporal) en ratas obesas inducidas con una dieta alta en grasas. Los resultados mostraron que los extractos disminuyeron el peso corporal en un 8.3% (60 mg/kg) y 15.8% (150 mg/kg) respecto al grupo control obeso; los niveles de colesterol total en un 11.5% y 31.5%; así como los triglicéridos en un 20% y 36% respectivamente (Song et al., 2013).

Finalmente, Basu y colaboradores (2010) probaron el efecto de una bebida a base de mora azul liofilizada sobre la disminución de factores de riesgo cardiovascular en hombres y mujeres con síndrome metabólico. Se administraron 50 g de moras azules liofilizadas, equivalentes a 350 g de moras azules frescas, que fueron reconstituidas en 480 mL de agua. Los resultados mostraron una disminución de la concentración de colesterol LDL oxidado (28%) en los sujetos que consumieron la bebida de mora azul liofilizada con respecto al grupo control. Por otro lado, se identificó una disminución de la presión sistólica (6%) y diastólica (4%). Dichos efectos observados se asociaron con la presencia de antocianinas.

Los estudios reportados hasta el momento sobre el efecto benéfico de los frutos rojos de fresa y mora azul en el tratamiento y prevención de la obesidad se han centrado en los compuestos polifenólicos extraíbles simples, principalmente en las antocianinas, las cuales son los compuestos mayoritarios. Sin embargo, a pesar del interés que existe en la actualidad sobre los polifenoles poliméricos en diferentes matrices alimentarias; el efecto a la salud de frutos de fresa y mora azul, de manera específica en la obesidad, no ha sido reportado.

Cuadro 2. Efectos benéficos de los frutos rojos sobre la obesidad

Matriz	Fresa	Mora azul	Referencia
Fruto	500 g fresa fresca en un tratamiento de 4 semanas disminuyen colesterol total, LDL, triglicéridos en voluntarios sanos ¹ . Extractos acuosos y de etanol-agua de fruto en un tratamiento de 4 semanas disminuyen LDL, VLDL y triglicéridos en ratas diabéticas ² .	50 g de moras azules consumidas por adultos con sobrepeso y obesidad durante 12 semanas disminuyeron la concentración de colesterol total y LDL ⁵ .	1. Alvarez-Suarez et al., 2014. 2. Mandave et al., 2017.
Bebida*	50 g de fresa liofilizada resuspendida en agua disminuye colesterol total y LDL en sujetos con factores de riesgo cardiovascular después de 12 semanas de tratamiento ³ .	480 mL de bebida de mora azul durante 8 semanas de tratamiento disminuyeron el colesterol LDL oxidado, así como la presión sistólica y diastólica en sujetos con síndrome metabólico ⁶ .	3. Basu et al., 2014. 4. Jaroslawska et al., 2011. 5. Istek y Gurbuz, 2017.
Subproducto	Suplementación de 7.7% de orujo de fresa por 4 semanas disminuyó triglicéridos y colesterol total en animales con dieta alta en fructosa ⁴ .	Extractos de cáscaras de mora azul administrados por 5 semanas en ratas obesas inducidas (60 mg/kg y 150 mg/kg) disminuyeron el peso corporal y la concentración de colesterol total y triglicéridos con respecto al control obeso ⁷ .	6. Basu et al., 2010.

*Fruto liofilizado resuspendido en agua

2.4 Efectos benéficos de los frutos cítricos en la obesidad

2.4.1 Naranja

Los frutos cítricos han sido reconocidos por su valor nutricional y propiedades antioxidantes, especialmente de las naranjas, las cuales son abundantes en vitaminas, antioxidantes y minerales que aportan diferentes beneficios a la salud. Algunos de los principales polifenoles encontrados en naranjas son flavonoides como neohesperedina, naringina, hesperedina, limoneno, tangeretina, entre otros

(Selvamuthukumar et al., 2017). La mayoría de los estudios relacionados con el tratamiento y prevención de la obesidad se han enfocado en extractos del fruto entero y en el jugo obtenido del mismo, sin embargo, también se ha estudiado el efecto benéfico a la salud de algunos subproductos obtenidos como las cáscaras (Cuadro 3).

La administración de un extracto etanólico (80%) liofilizado de naranja amarga en ratones con obesidad inducida con una dieta alta en grasa, administrado en una dosis de 100 mg/kg/día, disminuyó el peso corporal, el peso de tejido adiposo y el colesterol total en suero respecto al grupo control (Park et al., 2019). En este estudio se identificaron a partir de un análisis de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) naringina y neohesperidina, los cuales presentan efectos anti adipogénicos o anti obesogénicos, por lo que los autores los asocian como los posibles responsables de los resultados encontrados.

Por otro lado, Escudero y colaboradores (2016) determinaron los beneficios de una bebida de naranja con altas concentraciones de compuestos bioactivos (flavanonas, carotenoides, melatonina y ácido ascórbico) y una baja cantidad de alcohol (<1%, v/v) sobre parámetros metabólicos a través de la modulación del perfil lipídico en un modelo de ratones obesos inducidos con dieta alta en grasa. Los resultados mostraron una disminución del 13 % al 28 % del peso de tejido adiposo visceral y de triglicéridos en suero, con respecto al grupo control obeso.

Debido al interés que existe por el aprovechamiento de los residuos obtenidos en el procesamiento de naranjas para la elaboración de jugo, se han reportado algunos efectos anti obesogénicos de los compuestos bioactivos presentes principalmente en cáscaras. En pacientes con obesidad tratados con un pellet de cáscara de naranja deshidratada, se observó una disminución del IMC, niveles de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos (Kang et al., 2018).

2.4.2 Mandarina

Las caracterizaciones fitoquímicas, así como la evaluación de los efectos biológicos en los frutos cítricos, jugos y sus residuos, se ha realizado principalmente en naranjas y limones. Sin embargo, la mandarina en los últimos años ha tomado interés debido al aumento de su demanda de consumo en fresco y en productos procesados como jugos (Esparza-Martínez et al., 2016).

Los reportes hasta el momento relacionados con los efectos de la mandarina sobre la obesidad se han realizado únicamente en extractos preparados a partir del fruto completo o en sus cáscaras, enfocados en los compuestos polifenólicos extraíbles simples (Cuadro 3).

En un estudio donde se administró un extracto etanólico de mandarina verde (75 mg/kg/día) a un grupo de ratones alimentados con una dieta alta en grasa, se identificó la disminución de peso de tejido adiposo blanco y del tamaño de los adipocitos. El compuesto asociado a los efectos encontrados en este experimento fue la hesperidina, una flavanona que fue el compuesto más abundante en el extracto de mandarina verde (Kim et al., 2018).

Un extracto etanólico liofilizado de cáscara de mandarina se administró durante 6 semanas a un grupo de ratones *db/db* con diabetes tipo 2 inducida. Los resultados mostraron una disminución de ganancia de peso corporal y del tejido adiposo blanco total en los animales tratados con el extracto de mandarina con respecto a los grupos control (Park et al., 2013). Los efectos encontrados en la aplicación del extracto en estudio fueron relacionados con la hesperidina, que fue el principal flavonoide encontrado, del cual se ha reportado su acción en la mejora de los perfiles lipídicos en otros estudios.

A pesar de los estudios ya reportados sobre los efectos benéficos de la mandarina sobre la obesidad, aún no se han realizado investigaciones sobre la suplementación de alguna bebida elaborada a partir de la misma en el tratamiento y prevención de esta enfermedad dentro de un modelo *in vivo*.

2.4.3 Toronja

Existen evidencias sobre los beneficios de la toronja en la salud cardiovascular y en sus diferentes factores de riesgo como la obesidad. Entre los principales compuestos polifenólicos encontrados en la toronja, está la naringina, que es la flavanona más abundante. Este compuesto ha mostrado actividades antiinflamatorias y antioxidantes importantes (Razavi y Hosseinzadeh, 2019). Se han reportado diferentes estudios que avalan los beneficios de este fruto en el control de la obesidad (Cuadro 3).

Dow y colaboradores (2012) determinaron el efecto de consumo de la toronja en la reducción de peso corporal y presión sanguínea y su mejora en el perfil lipídico de adultos con sobrepeso. Los participantes consumieron una rebanada de toronja fresca 3 veces al día durante 6 semanas. Después del tratamiento, los participantes que consumieron la toronja fresca tuvieron una ligera disminución de peso corporal y circunferencia de cintura, así como una reducción significativa en la presión sanguínea sistólica comparado con los valores basales. Además, se identificó una disminución significativa en los valores de colesterol y LDL comparado con los valores basales.

Otro estudio evaluó en adultos obesos el efecto de consumo de jugo de toronja antes del desayuno, comida y cena, después de completar una fase de restricción calórica de 2 semanas. Se observó una pérdida de peso con respecto al peso basal, disminuyendo además el IMC y una reducción de circunferencia de cintura, además se incrementaron los niveles de colesterol HDL. Una posible explicación que los autores dan a este último efecto encontrado fue el aumento de la actividad antioxidante de una mayor ingesta de vitamina C y/o flavonoides, siendo el mayoritario la naringina, presente en el jugo de toronja. Sin embargo, la actividad antioxidante no fue medida en el estudio (Silver et al., 2011).

Cuadro 3. Efectos benéficos de los frutos cítricos sobre la obesidad

Matriz	Naranja	Mandarina	Toronja	Referencias
Fruto	Extracto etanólico liofilizado de naranja amarga en ratones obesos (100/mg/kg) después de 8 semanas de tratamiento, disminuyó el peso corporal, peso de tejido adiposo y colesterol total en suero ¹ .	Extracto etanólico de mandarina verde administrado en ratas obesas (75 mg/kg) durante 10 semanas logró una reducción de peso de tejido adiposo blanco y grado de adiposidad ⁴ .	Rebanada de toronja consumida 3 veces al día por adultos con sobrepeso después de 6 semanas de tratamiento logró una ligera disminución de peso corporal y circunferencia de cintura, y reducción significativa de presión sistólica y colesterol total ⁶ .	1. Park et al., 2019. 2. Escudero et al., 2016.
Bebida	250 mL/día de bebida de naranja fermentada (<1% alcohol) en ratones obesos después de 12 semanas de consumo disminuyó peso de tejido adiposo visceral y triglicéridos en plasma ² .		127 g de jugo de toronja administrados como precarga densa de baja energía en adultos obesos durante 12 semanas redujeron peso corporal, IMC y circunferencia de cintura. Además, la concentración de HDL aumentó significativamente ⁷ .	3. Kang et al., 2018. 4. Kim et al., 2018. 5. Park et al., 2013. 6. Dow et al., 2012. 7. Silver et al., 2011.
Subproducto	Pellets de cáscara de naranja administrados en pacientes obesos por 4 semanas, disminuyeron el IMC, peso corporal, niveles de LDL, colesterol total y triglicéridos ³ .	Extracto etanólico liofilizado de cáscara de mandarina se administró durante 6 semanas (2g/100 g dieta estándar) en ratos diabéticos y logró una reducción de peso corporal y tejido adiposo blanco ⁵ .	La suplementación al 1% de una dieta alta en grasa con extractos etanólicos de cáscara de toronja después de 8 semanas disminuyeron el peso corporal de ratones obesos, así como la concentración de colesterol total y triglicéridos en hígado ⁸ .	8. Ding et al., 2013.

Finalmente, un extracto etanólico de cáscaras de 4 variedades de toronja (1%) fue administrado a ratones obesos inducidos con una dieta alta en grasa. Se reportó que dos variedades de toronja (“Liangpinyou” y “Wubuyou”) lograron una disminución significativa del peso corporal, colesterol total y triglicéridos en hígado. Las variedades que mostraron mejores efectos presentaban un contenido mayor de flavonoides con respecto a las otras variedades, por lo que los autores atribuyen estos perfiles de compuestos bioactivos como los responsables de los beneficios encontrados, principalmente a la hesperedina y naringina (Ding et al., 2013). Los compuestos polifenólicos extraíbles poliméricos que se han reportado en algunos frutos cítricos han sido poco estudiados en relación a los efectos benéficos en enfermedades como la obesidad. La mayoría de estos estudios han asociado los beneficios a la presencia de compuestos polifenólicos simples como los flavonoides.

Debido al aumento de enfermedades crónicas como el sobrepeso y la obesidad en la población, la industria de los alimentos ha buscado desarrollar productos funcionales que puedan disminuir la prevalencia de estos padecimientos, tales como las bebidas funcionales, las cuales pueden aportar diferentes beneficios para la salud.

2.5 Bebidas funcionales

Las bebidas funcionales son alimentos que contienen compuestos que aportan diferentes beneficios a la salud del consumidor y representan una alternativa de fácil adquisición y consumo. Las bebidas más consumidas en el mundo son las bebidas tipo té, las cuales son consideradas como bebidas funcionales, debido a las propiedades benéficas de las plantas y frutos que se utilizan para su elaboración. Las dos formas más comunes de preparación de bebidas tipo té es por medio de infusiones y decocciones, siendo la decocción el método más común y efectivo para una mejor extracción de moléculas simples y complejas como los compuestos fenólicos (Carocho et al., 2015). La decocción es un proceso convencional de extracción que consiste en la ebullición de material vegetal en agua, permitiendo la extracción de compuestos solubles en agua como los polifenoles (Rodino y Butu,

2019). De acuerdo con las estadísticas, el mercado global de polifenoles presenta a las bebidas funcionales como una de las principales aplicaciones de estos compuestos bioactivos, logrando que este tipo de bebidas puedan ser sustitutos de otras bebidas no alcohólicas (Grand View Research, 2019).

Los compuestos polifenólicos provenientes de los frutos como los rojos y cítricos han sido utilizados como componentes principales en la elaboración de bebidas funcionales en un 44 %, ya que además de los beneficios que se han demostrado de los mismos, los frutos aportan sabores atractivos para las personas de todas las edades y son percibidos como productos saludables y refrescantes (Adebooye et al., 2018).

Los compuestos polifenólicos presentes en diferentes residuos obtenidos del procesamiento de los alimentos han tomado interés para el desarrollo de nuevos productos que puedan otorgar mayores beneficios a la salud. Con el propósito de obtener fuentes ricas en compuestos bioactivos al menor costo posible, los residuos generados dentro del procesamiento industrial de jugos de frutas y decocciones se han convertido en una opción para la elaboración de bebidas funcionales (Puiggròs et al., 2017), como el uso de orujo de uva para enriquecer los compuestos polifenólicos de un jugo de uva (Aguilar et al., 2018) o el orujo de grosella negra para una bebida láctea (Ni et al., 2018).

3. JUSTIFICACIÓN

En México, el número de casos de personas con sobrepeso y obesidad ha aumentado, siendo el consumo excesivo de calorías provenientes de bebidas azucaradas, una de las causas principales de estos padecimientos. Existen diversas estrategias enfocadas en la prevención de la obesidad, como la disminución en la ingesta de alimentos con alto contenido de azúcares refinados, así como un mayor consumo de frutas como fuentes de fibra dietética y de compuestos bioactivos como los polifenoles. Se han reportado diferentes beneficios de estos compuestos polifenólicos en el tratamiento de la obesidad y sus complicaciones, sobre todo de aquellos que se encuentran en frutos rojos como fresa y mora azul, y en frutos cítricos como naranja, mandarina y toronja. Las investigaciones en dichos frutos se han realizado en matrices como frutos enteros, extractos, bebidas y residuos generados a partir de la elaboración de jugos; sin embargo, la mayoría de ellos se han enfocado en los compuestos polifenólicos simples como antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos. Cabe destacar que, dichos frutos también contienen polifenoles poliméricos como las proantocianidinas y taninos hidrolizables, los cuales han sido poco estudiados respecto a sus beneficios a la salud.

Por lo tanto, para aprovechar los compuestos bioactivos de estos frutos, se pueden desarrollar bebidas a partir de procesos de extracción como las decocciones, que permiten extraer una mayor cantidad de compuestos polifenólicos de estas matrices, principalmente polifenoles simples. En este proceso, se obtienen residuos como remanentes de pulpa y cáscaras, que pueden ser aprovechados por contener en su mayoría polifenoles poliméricos que se sabe que aportan beneficios en el control de la obesidad. Por lo que en el presente proyecto se pretende elaborar bebidas a partir de decocciones de frutos rojos como fresa y mora azul, así como de frutos cítricos como naranja, mandarina y toronja, que sean enriquecidas con compuestos polifenólicos tanto simples como poliméricos provenientes de los residuos de las decocciones y evaluar su efecto en el control de la obesidad en un modelo *in vivo*.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Elaborar bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles de decocciones y sus residuos de frutos rojos y cítricos para evaluar su efecto *in vivo* en el control de la obesidad.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar las características físicas, químicas, fitoquímicas y sensoriales de las decocciones de frutos rojos y cítricos.
- Desarrollar diferentes formulaciones de bebidas con las decocciones de frutos rojos y cítricos y evaluar su aceptabilidad sensorial.
- Determinar las condiciones de extracción para obtener la mayor cantidad de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles a partir de los residuos de las decocciones.
- Desarrollar diferentes bebidas enriquecidas con los residuos de las decocciones y cuantificar sus propiedades físicas, químicas y contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos.
- Evaluar el efecto de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles seleccionadas en un modelo de obesidad inducido con dieta.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos rojos de fresa (*Fragaria*) y mora azul (*Vaccinium corymbosum*), así como frutos cítricos de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*), los cuales fueron donados por agricultores locales de los estados de Michoacán y Guanajuato.

5.1.2 Material biológico

Se utilizaron 80 ratas de la cepa Wistar machos de 160-180 g de peso corporal. Los animales se adquirieron en el bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, diseñándose los experimentos de acuerdo al protocolo de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Autónoma de Querétaro, siguiendo los lineamientos estipulados en la NOM-062-ZOO-1999.

5.2 Métodos

En la Figura 1 se muestra el esquema de experimentación llevado a cabo en el proyecto de investigación.

5.2.1 Elaboración de decocciones de frutos rojos y cítricos y procesamiento de sus residuos

Los frutos rojos se cortaron en rebanadas de 0.5 cm de espesor, mientras que los cítricos se cortaron en rebanadas de 1 cm. Posteriormente, las rebanadas se secaron en un horno de circulación de aire forzado (Binder, BF 400) a 45 °C de 48 a 72 h. Para la preparación de las decocciones se tomaron 50 g de cada fruta seca y se sometieron a un proceso de extracción con 1000 mL de agua a 95 °C con agitación constante durante 15 min. Finalmente, las decocciones se filtraron y se ajustaron a un volumen de 1000 mL. Los residuos de las decocciones se secaron a 45 °C durante 48 h y a continuación se molieron en un procesador de alimentos.

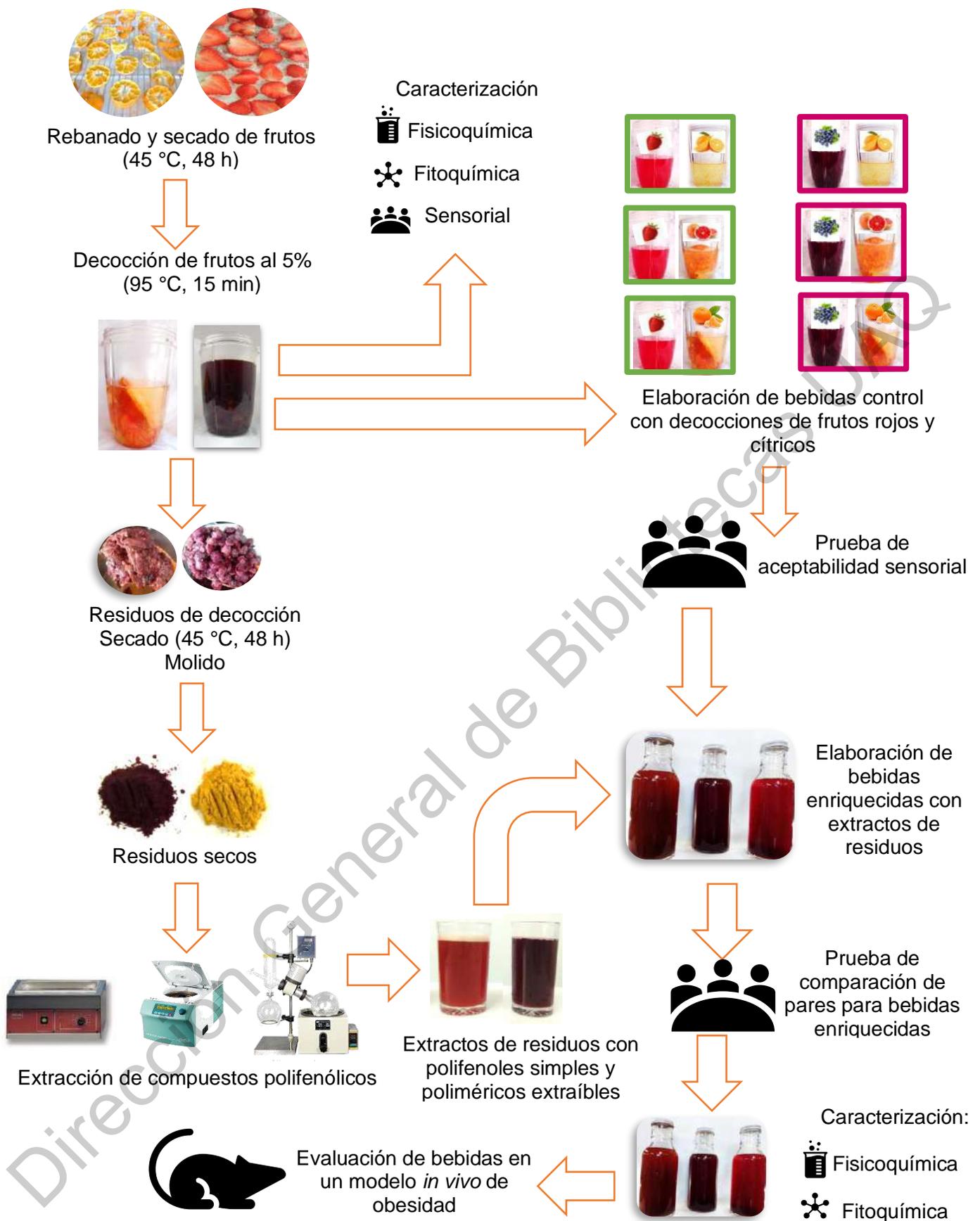


Figura 1. Esquema de experimentación general

5.2.2 Caracterización de las propiedades físicas y químicas de las decocciones de frutos rojos y cítricos

a) Color

Los parámetros de color se determinaron con un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific). Se colocaron 300 µL de cada muestra y se realizó una medición de las absorbancias en una longitud de onda de 380 nm-780 nm con una resolución de 1 nm. Los datos obtenidos se procesaron en el software ColorBySpectra (de acuerdo a observador estándar CIE 1964, distribución espectral del iluminante D65 y un ángulo de visión de 10°), donde se obtuvieron los parámetros del sistema CIE que fueron L* que indica la luminosidad (L*= 0 indica negro y L*=100 indica blanco), a* la coloración rojo-verde (valores negativos indican verde y positivos rojos) y b* la coloración amarillo-azul (valores negativos indican azul y positivos indican amarillo) (Tang y Giusti, 2018; Cheng et al., 2019).

b) pH

El pH se determinó a partir de la metodología descrita en la NMX-F-317-S-1978 para la determinación de pH en alimentos con un potenciómetro con electrodo de vidrio (Horiba F-74BW).

c) Acidez titulable

La acidez titulable se realizó a partir de la metodología oficial de la AOAC 942.15 para la determinación de acidez titulable en productos de frutas por método potenciométrico. Se titularon 10 mL de cada muestra con una solución de NaOH 0.1 M estandarizada hasta lograr un pH de 8.1. Se registró el volumen total utilizado en la titulación. El porcentaje de acidez titulable se estimó a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez titulable} = \frac{(V_{\text{NaOH}}) \times (M_{\text{NaOH}}) \times (F_{\text{ácido cítrico}})}{(C_{\text{NaOH}}) \times (V_{\text{muestra}})} \times 100\%$$

Donde:

V_{NaOH} : Volumen de gasto de la solución de NaOH estandarizada (mL)

M_{NaOH} : Concentración molar de la solución de NaOH estandarizada

$F_{\text{ácido cítrico}}$: factor de conversión de equivalencia de 1 mL de NaOH 0.1 M del ácido mayoritario de la muestra. Ácido cítrico anhidro (0.006404)

C_{NaOH} : Concentración molar ideal de la solución de NaOH (0.1M)

$V_{muestra}$: volumen de la muestra (mL)

d) Grados Brix

La concentración de sólidos solubles totales se determinó por la metodología descrita en el método oficial de la AOAC 932.12 para sólidos solubles en frutas y productos de frutas, utilizando un refractómetro (Hanna Instruments HI 96801).

5.2.3 Caracterización fitoquímica de las decocciones de frutos rojos y cítricos

5.2.3.1 Cuantificación de compuestos polifenólicos extraíbles simples

a) Fenoles totales

Se diluyeron 200 μ L de decocción y 800 μ L de agua destilada. Una alícuota de 20 μ L de esta solución se mezcló con 30 μ L de agua destilada, 25 μ L del reactivo de Folin Cicalteu 1 N y 125 μ L de Na_2CO_3 (20%). Se dejó reposar la mezcla en obscuridad a temperatura ambiente durante 30 min y se midieron las absorbancias a 765 nm en un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific). La cuantificación de polifenoles totales se realizó de acuerdo con una curva estándar de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por mL de decocción (Singleton et al., 1999).

b) Flavonoides totales

Se determinaron de acuerdo con la metodología reportada por Oomah y colaboradores (2005). A una alícuota de 50 μ L de decocción se le agregaron 180

μL de agua destilada y 20 μL de una solución de 2-aminoetil difenil borato (10g/L) en solución metanólica. Posteriormente se leyó a una absorbancia de 404 nm en un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific). Se realizó una curva de calibración de rutina (1 mg/mL) disuelta en etanol y los resultados se expresaron como mg eq de rutina/mL de decocción.

c) Antocianinas totales

Se diluyeron 50 μL de decocción con 175 μL de cada una de las soluciones amortiguadoras (cloruro de potasio 0.025 M, pH 1 y acetato de sodio 0.4 M, pH 4.5). Posteriormente se midieron sus absorbancias a 510 nm y 700 nm considerando ambos pH en un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific) (Giusti y Wrolstad 2001). Los resultados se expresaron como mg de cianidina-3-O-glucósido/mL de decocción a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\text{Absorbancia total} = (\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Antocianinas totales} = \frac{\text{Absorbancia total} * 1000 * \text{PM} * \text{FD}}{\epsilon * d}$$

Donde:

Abs: Absorbancia

PM: Peso molecular de cianidina – 3 – O – glucósido ($448.8 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$)

FD: Factor de dilución

ϵ : Coeficiente de extinción molar de cianidina – 3 – O – glucósido ($26900 \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$)

d: distancia (1 cm)

5.2.3.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos extraíbles poliméricos

a) Proantocianidinas totales

El contenido de proantocianidinas en las decocciones se determinó a partir de la metodología de vanillina-HCl descrita por Zielinski y Haminiuk (2018). A una alícuota de 200 μL de muestra se le adicionaron 1.2 mL de vanillina (4%, p/v vanillina en

metanol). Después de agitarse, se le adicionaron 600 μ L de HCl concentrado y se agitaron. Finalmente, la solución se guardó en oscuridad por 15 min y se midió su absorbancia a 500 nm utilizando un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific). Se utilizó una curva estándar de catequina. Los resultados se expresaron como mg eq de catequina/mL de decocción.

5.2.4 Caracterización sensorial de las decocciones de frutos rojos y cítricos

Para identificar el perfil de sabores en las decocciones en estudio, se realizó una prueba de perfilado sensorial CATA (Check-all-that-apply). Esta prueba consistió en proporcionar a los participantes 25 mL de cada decocción (4 °C) de fresa, mora azul, naranja, mandarina y toronja, y entre cada degustación identificar y marcar en un listado ya proporcionado, cuáles eran los sabores que se encontraban en cada decocción (Varela y Ares, 2012). Los sabores evaluados fueron dulce, amargo, ácido y astringente. Para esta evaluación se utilizó un panel no entrenado de 45 estudiantes de la Universidad Autónoma de Querétaro de 20 a 35 años, llevándose a cabo en las instalaciones del laboratorio de análisis sensorial del Centro Académico de Innovación y Desarrollo de Productos del Estado de Querétaro (CAIDEP), de la misma universidad. A cada participante se le dio a conocer el consentimiento informado correspondiente, aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Química.

5.2.5 Elaboración de bebidas a partir de las decocciones de frutos rojos y cítricos (bebidas control)

Se elaboraron 6 bebidas diferentes: naranja-fresa, mandarina-fresa, toronja-fresa y naranja-mora azul, mandarina-mora azul y toronja-mora azul, utilizando una proporción de fruto rojo: cítrico 80:20 v/v. Para las bebidas de fresa con un cítrico se utilizaron 4.5% de sacarosa como endulzante y 1% de ácido cítrico (1%) como regulador de pH; mientras que, para las bebidas de mora azul con un cítrico 5.1% y 2%, respectivamente. Posteriormente se sometieron a una pasteurización de 73 °C por 15 s.

5.2.6 Prueba de aceptabilidad de sabor para bebidas control de frutos rojos y cítricos

Se evaluaron las 6 bebidas diferentes en un panel sensorial no entrenado de 50 estudiantes de la Universidad Autónoma de Querétaro con un rango de edad de 20 a 35 años, en las instalaciones del CAIDEP, dándose a conocer el consentimiento informado correspondiente a cada participante. La prueba consistió en dar a los participantes 25 mL de cada bebida a 4 °C, las cuales se evaluaron con una escala hedónica de 5 puntos desde 1= me disgusta mucho hasta 5= me gusta mucho con respecto al sabor (Lawless y Heymann, 2010).

5.2.7 Estudio de las condiciones de extracción de polifenoles totales de residuos de decocción de frutos rojos y cítricos

Para poder identificar las condiciones de mayor extracción de compuestos polifenólicos en los residuos en polvo de las decocciones, se estudiaron tres factores de extracción con dos niveles cada uno: temperatura (25 °C, 60 °C), concentración de residuo (1%, 5%) y tiempo de agitación (1 h, 7 h), como se observa en el Cuadro 4. Para este proceso se utilizó una solución de etanol (50%), debido a que el etanol es un solvente orgánico de grado alimenticio empleado en diferentes extracciones de compuestos polifenólicos (Turkmen et al., 2006). Las variables de respuesta determinadas fueron fenoles totales y proantocianidinas extraíbles, cuyas metodologías se describieron en los apartados 5.2.3.2 y 5.2.3.3. Estas condiciones se establecieron de acuerdo con lo reportado en la literatura sobre la extracción de compuestos bioactivos de residuos de frutas (Kosmala et al., 2014; Struck et al., 2016). Finalmente, después del proceso de extracción con la temperatura, concentración y tiempo correspondientes, los extractos se centrifugaron a 3060 x g a -20 °C por 10 min (Vatai et al., 2009). Para poder eliminar el etanol del extracto, se empleó un Rotavapor Buchi R-114 en un baño de agua a 45 °C

Cuadro 4. Factores y niveles de la extracción de compuestos fenólicos totales y proantocianidinas extraíbles de los residuos de decocción de frutos rojos y cítricos

Factores/Niveles	-1	1
Temperatura de extracción (°C)	25	60
Tiempo (h)	1	7
Concentración de residuo (%)	1	5

De acuerdo con los resultados obtenidos, fue necesario aplicar otros niveles de los factores evaluados (Cuadro 5) con la metodología previamente descrita, que permitieran obtener una mayor concentración de los fenoles totales. Además, se midieron adicionalmente antocianinas totales, cuya determinación está descrita en el apartado 5.2.3.2, ya que las proantocianidinas extraíbles no fueron estadísticamente significativas en las condiciones aplicadas en el primer diseño experimental.

Cuadro 5. Factores y niveles de extracción de compuestos fenólicos y antocianinas totales de los residuos de decocción de frutos rojos y cítricos

Factores/Niveles	-1	1
Temperatura de extracción (°C)	25	80
Tiempo (h)	1	5
Concentración de residuo (%)	1	3

A partir de los resultados obtenidos se eligieron las condiciones que permitieron obtener la mayor cantidad de compuestos fenólicos y antocianinas totales en los extractos de residuos de decocción. Posteriormente, se elaboraron las bebidas control y las bebidas enriquecidas con los extractos de los residuos correspondientes.

De acuerdo con los resultados, los cuales se explicarán a detalle más adelante, se elaboraron bebidas con las decocciones y residuos únicamente de los frutos rojos de fresa y mora azul, descartando los cítricos.

5.2.8 Elaboración de bebidas control y enriquecidas de las decocciones de fresa y mora azul

5.2.8.1 Bebidas control de fresa, mora azul y fresa-mora azul

Se elaboraron tres bebidas diferentes: fresa (100%), mora azul (100%) y fresa-mora azul (50:50 v/v). utilizando sucralosa (2%) y acesulfame (2%) como edulcorantes no calóricos, ácido cítrico (1%) como regulador de pH y sorbato de potasio (1%) como conservador. Cabe mencionar que estos aditivos se adicionaron siguiendo los límites permitidos para bebidas no alcohólicas de acuerdo a la NOM-218-SSA1-2011. Las diferentes formulaciones para cada bebida se muestran en el Cuadro 6. Finalmente, las bebidas fueron pasteurizadas a 73 °C durante 15 s.

Cuadro 6. Formulaciones de bebidas control de fresa, mora azul y fresa-mora azul

Bebida	Aditivos*			
	Sorbato de potasio (1%)	Sucralosa (2%)	Acesulfame (2%)	Ácido cítrico (1%)
Fresa	50 mg/L	50 mg/L	50 mg/L	150 mg/L
Mora azul		35 mg/L	35 mg/L	
Fresa-Mora azul				

*Los datos mostrados en la tabla se expresan por cada 1000 mL de bebida correspondiente

5.2.8.2 Bebidas enriquecidas con extractos de residuos de decocción de fresa y mora azul

En los extractos de los residuos se identificaron sabores astringentes y amargos que podrían influir en la poca aceptación sensorial en las bebidas desarrolladas. Por lo tanto, se elaboraron bebidas con dos porcentajes de extracto de residuo adicionados (10% y 15%) a las bebidas control, para realizar una prueba de comparación de pares y conocer si los panelistas tenían preferencia hacia alguna bebida en particular. Los aditivos utilizados en las bebidas con anterioridad se modificaron debido al cambio de sabor que presentaron las bebidas al adicionarse los extractos de residuos de decocción correspondientes. Del mismo modo, las bebidas fueron pasteurizadas a 73 °C durante 15 s.

5.2.8.3 Prueba de comparación de pares para bebidas enriquecidas con extractos de residuos de decocciones

La prueba de comparación de pares se realizó con un panel no entrenado de 45 estudiantes de la Universidad Autónoma de Querétaro con un rango de edad de 20 a 35 años, en las instalaciones del laboratorio de análisis sensorial CAIDEP, dándose a cada estudiante el consentimiento informado correspondiente. La prueba consistió en dar a probar 3 pares de muestras de 30 mL de bebidas de fresa, mora azul y fresa-mora azul (4 °C), donde cada evaluador eligió la de mayor agrado con respecto a su sabor (Lawless y Heymann, 2010).

5.2.9 Caracterización de las propiedades físicas, químicas y fitoquímicas de las bebidas control y las bebidas enriquecidas de fresa y mora azul

5.2.9.1 Caracterización física y química

Las determinaciones de color, pH, acidez titulable y grados Brix se realizaron de acuerdo con las metodologías descritas previamente en el apartado 5.2.2.

5.2.9.2 Caracterización fitoquímica

La determinación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles de las bebidas correspondientes se llevó a cabo con las metodologías descritas en los apartados 5.2.3.2 y 5.2.3.3.

5.2.10 Evaluación del efecto de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles sobre la obesidad en un modelo animal

5.2.10.1 Inducción de obesidad y administración de tratamientos

Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas de humedad ($50 \pm 10\%$), temperatura (23 ± 2 °C), ciclos luz/oscuridad (12/12 h) y ventilación constante de acuerdo con la NOM-062-Z00-1999. Se colocaron 2 ratas por jaulas, identificadas respectivamente, correspondiendo cada jaula a una unidad experimental. Los animales se sometieron a una semana de aclimatación, donde se alimentaron de una dieta estándar de croqueta comercial de la marca Rodent Laboratory Rodent Diet 5001. Después de la semana de aclimatación, los animales se clasificaron

aleatoriamente en 8 grupos con 10 animales cada uno. Posteriormente, se sometieron a 18 semanas de tratamiento, donde se incluyó un grupo control sano, que fue alimentado con una dieta estándar (DE), un grupo control obeso, alimentado con una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF), 3 grupos de ratas alimentados con DAGF + una bebida control (fresa, mora azul o fresa-mora azul) y 3 grupos de ratas alimentados con DAGF + una bebida enriquecida con extracto de residuo de decocción (fresa, mora azul o fresa-mora azul) (Figura 2). La composición nutrimental de la DE y DAGF se muestra en el Cuadro 7. Los animales del grupo control sano y obeso consumieron agua *ad libitum*; mientras que, los grupos con tratamiento consumieron cada 12 horas la bebida control o enriquecida según correspondiera.

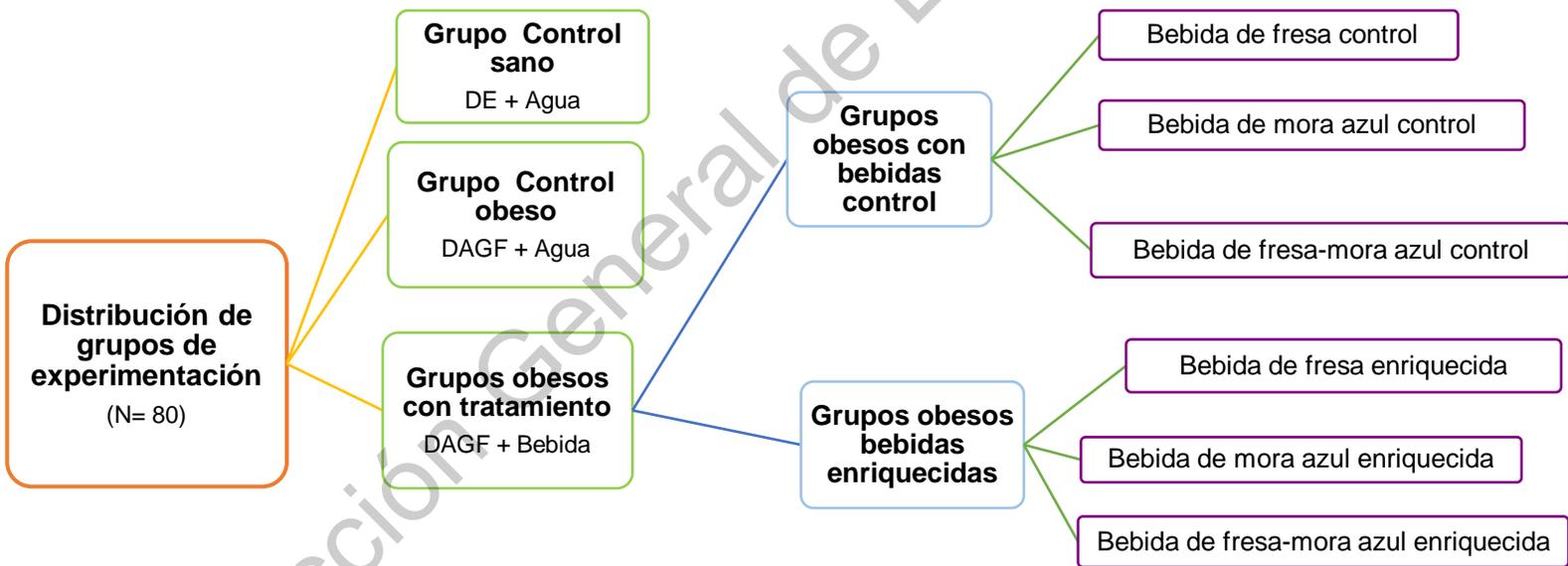


Figura 2. Distribución de grupos de experimentación del modelo *in vivo*
 DE: dieta estándar; DAGF: dieta alta en grasa y fructosa.

Cuadro 7. Contenido nutrimental de dietas aplicadas en el modelo biológico

Nutrientes	Dieta estándar (DE)	Dieta alta en grasa y fructosa (DAGF)
Proteínas	25%	15.4%
Carbohidratos	52.8%	50.6%
-Fructosa	0%	18.0%
Lípidos	11.4%	27.0%
-Saturados	0%	20.0%
Minerales	7%	4.3%
Vitaminas	7%	4.3%

5.2.10.2 Evaluación del control de la obesidad

a) Control de peso, consumo de alimento y consumo de bebida

El peso corporal se monitoreó semanalmente, así como el registro del consumo de alimento y bebida 2 veces a la semana de todos los grupos.

b) Parámetros físicos en los animales

Se tomaron mediciones físicas cada 15 días. Las mediciones correspondientes a la circunferencia abdominal, circunferencia torácica y la longitud (nasal-anal) se realizaron con una cinta métrica (Figura 3). A partir de estas mediciones se realizaron los cálculos correspondientes al IMC, Índice de Lee, tasa de ganancia de

peso corporal e ingesta de energía (Novelli et al., 2007), cuyas ecuaciones se observan en el Cuadro 8.

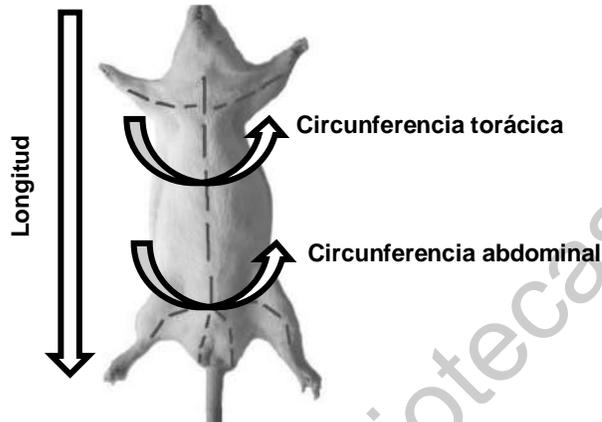


Figura 3. Parámetros físicos en modelo *in vivo*

Cuadro 8. Determinaciones de evaluación del control de la obesidad

Parámetro	Determinación
Índice de masa corporal (IMC)	$IMC = \frac{\text{peso corporal (g)}}{\text{longitud (cm}^2\text{)}}$
Índice de Lee (IL)	$IL = \frac{\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)} \times 10}}{\text{longitud (mm)}}$
Tasa de ganancia de peso corporal (TG)	$TG = \frac{dM}{Mdt}$ <p>Donde: $dM: dt = t2 - t1$ $M: \text{peso corporal en } t1$</p>
Ingesta de energía (IE)	$IE = \frac{\text{media de consumo de alimento (g)}}{\text{energía metabolizable de dieta (kJ)}}$

5.2.10.3 Triglicéridos en sangre durante el tratamiento

Se determinaron a partir de una muestra de sangre de la cola, en un glucómetro Accutrend Plus marca Roche, utilizando tiras reactivas para su determinación cuantitativa.

5.3 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como la media \pm desviación estándar. La evaluación estadística de los datos se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA). Para la comparación de las características físicas, químicas y fitoquímicas de las bebidas control y enriquecidas, las condiciones de extracción de compuestos polifenólicos de los residuos de decocción, así como del peso corporal, mediciones físicas, consumo de alimento y bebida de los grupos animales control y en tratamiento, se realizó un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey y al compararse con un control, para las determinaciones del modelo animal se utilizó la prueba de Dunnett. Para los datos del perfilado sensorial de las decocciones se utilizó una prueba Q de Cochran. En la evaluación sensorial de aceptabilidad de las bebidas de frutos rojos y cítricos se empleó una prueba de Pearson. Para el modelo animal, los datos se expresaron como la media \pm error estándar. Para determinar si los datos del modelo animal debían analizarse con herramientas paramétricas o no paramétricas, la distribución de datos se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y la homocedasticidad con la prueba de Levene. Suponiendo normalidad en las variables respuestas, éstas se analizaron con la prueba de Tukey mientras que sin suponer normalidad se analizaron por U de Mann-Whitney. Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico de JMP 11 portable.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización física y química de las decocciones de frutos rojos y cítricos

Los parámetros físicos y químicos como el pH, acidez titulable, sólidos solubles (grados Brix) y color se encuentran relacionados con la estabilidad de los compuestos bioactivos en todos los productos derivados de frutos (Sánchez-Moreno et al., 2006). En el Cuadro 9 se identifican las características físicas y químicas que presentaron cada una de las decocciones preparadas.

El valor de pH es una función directa de los iones de hidrógeno libres presentes en un alimento. Los ácidos en los alimentos liberan estos iones de hidrógeno, que le dan a estos alimentos sus sabores ácidos característicos (Garlough et al., 2010). De forma general se observa que las decocciones de frutos rojos presentaron un menor valor de pH, así como un mayor porcentaje de acidez titulable, en comparación con las decocciones de frutos cítricos.

La estabilidad y color de moléculas como las antocianinas, que se encuentran presentes en los frutos rojos, está fuertemente relacionada con el pH. En condiciones ácidas (pH 2 o menor) las antocianinas existen en forma de catión flavilium y presentan un color rojo o naranja. Cuando el pH se incrementa arriba de pH 3, se produce la hidratación de dicho catión, dando lugar a una pseudo-base de carbinol incolora, logrando la apertura del anillo y convirtiéndose en una pseudo-base de chalcona inestable (Howard et al., 2016). Por lo que, el pH relativamente bajo en estas decocciones es favorable para prevenir la pérdida de antocianinas. Por otro lado, se ha reportado que los jugos y bebidas de frutas son alimentos seguros microbiológicamente debido a su bajo pH (<4.0), reduciendo la proliferación de hongos filamentosos y bacterias ácido lácticas principalmente (Pina-Pérez et al., 2017).

Por otro lado, las decocciones de fresa y mora azul presentaron una mayor cantidad de grados Brix (2.77-3.37), con respecto a las decocciones de naranja, mandarina y toronja (0.37-0.53). Los grados Brix en fresa y mora azul reportados para jugos oscilan entre 7.5-8.0 y 8.0-9.0 respectivamente (Buvé et al., 2018; Frölech et al., 2019; Yildiz et al., 2019); mientras que, para jugos de cítricos oscilan de 11.0-14.0 para naranja, 11-13.0 para mandarina y de 9.0 a 13.0 para toronja (Sicari et al., 2018; Rouquié et al., 2019; Cheng et al., 2020; Castañón-Rodríguez et al., 2020). El menor valor mostrado en las decocciones puede relacionarse con el aumento de la temperatura durante la preparación de la decocción (95 °C), el cual forma productos de reacción de Maillard, que se generan por la reacción entre azúcares, aminoácidos y proteínas (Sharma et al., 2015).

Para la medición de color se consideraron tres coordenadas que representan la luminosidad del color (L^*), la posición entre rojo y verde (a^*) y la posición entre amarillo y azul (b^*). Se observa que las decocciones de cítricos mostraron mayor luminosidad (95.10-95.94), en comparación con los frutos rojos (77.80-79.20). En cuanto al parámetro a^* se identificaron valores negativos para los cítricos y para los frutos rojos positivos, indicando con ello la tendencia de estos últimos hacia colores rojos.

Cuadro 9. Características físicas y químicas de decocciones de frutos rojos y cítricos

Decocción	pH	%Acidez titulable*	Grados Brix	Color		
				CIE L*	CIE a*	CIE b*
Fresa	3.54 ± 0.03 ^c	0.37 ± 0.007 ^a	3.37 ± 0.12 ^a	79.20 ± 0.14 ^b	15.30 ± 0.67 ^b	35.27 ± 0.30 ^a
Mora azul	3.09 ± 0.01 ^d	0.35 ± 0.002 ^b	2.77 ± 0.06 ^b	77.80 ± 0.74 ^c	27.26 ± 1.47 ^a	2.49 ± 0.26 ^c
Naranja	4.01 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.002 ^d	0.37 ± 0.06 ^c	95.49 ± 0.02 ^a	-1.03 ± 0.03 ^c	3.61 ± 0.04 ^b
Mandarina	4.02 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.002 ^d	0.50 ± 0.00 ^c	95.94 ± 0.06 ^a	-0.86 ± 0.02 ^c	2.64 ± 0.04 ^c
Toronja	3.91 ± 0.05 ^b	0.06 ± 0.002 ^c	0.53 ± 0.06 ^c	95.10 ± 0.55 ^a	-0.86 ± 0.06 ^c	3.79 ± 0.14 ^b

Los valores representan la media ± la desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa (*p* exacta) con la prueba de Tukey.

g de ácido cítrico/100 mL decocción. L=luminosidad; L=0 color negro; L=100 color blanco; a=negativo verde, positivo rojo, b*=negativo azul, positivo amarillo.

6.2 Caracterización fitoquímica de las decocciones y sus residuos de frutos rojos y cítricos

Las decocciones son reconocidas como bebidas funcionales ya que al provenir de especies herbales tienen diferentes efectos benéficos a la salud, los cuales se han asociado al perfil polifenólico de las plantas y frutos (Fotakis et al., 2016). Los compuestos polifenólicos extraíbles tanto simples como poliméricos determinados en las diferentes decocciones de frutos rojos y cítricos se muestran en el Cuadro 10.

Para el contenido de fenoles totales se encontraron diferencias significativas entre las decocciones de frutos rojos y cítricos. Se puede observar que la concentración de fenoles totales en las decocciones de frutos rojos es 51% mayor que en las decocciones de cítricos. Las antocianinas totales se detectaron en los frutos rojos,

mostrando la decocción de mora azul la mayor cantidad de ellas seguida de la decocción de fresa. En las decocciones de cítricos no se detectaron estos compuestos.

Con respecto a los flavonoides totales, la decocción de mora azul presentó la mayor concentración de todas las decocciones. Esta decocción mostró un mayor contenido, hasta 4.5 veces con respecto a fresa y 4 veces mayor con respecto a los cítricos. Las decocciones de naranja y toronja presentaron mayor cantidad de estos compuestos.

Los frutos de fresa y mora azul se encuentran entre las especies vegetales con mayor cantidad de compuestos bioactivos, siendo las antocianinas los principales compuestos polifenólicos responsables de la coloración rojo o púrpura (Luís et al., 2018). Por otro lado, dentro de los cítricos se encuentran 3 grupos principales de flavonoides (flavanonas, flavonas y flavonoles); aunque dentro de las flavonas se encuentran las antocianinas, se ha reportado que éstas se localizan únicamente en un grupo específico de naranjas dulces (*Citrus sinensis* L Osbeck) denominadas naranjas “sanguíneas” (Ballistreri et al., 2019). Existen pocos estudios realizados en decocciones e infusiones de cítricos y frutos rojos. No obstante, los reportes como el de Moldovan y colaboradores (2015) donde se realizó el análisis de compuestos polifenólicos y antocianinas totales en té comerciales de fresa y mora azul. Los análisis mostraron un contenido de fenoles totales de 0.13-0.15 mg eq AG/mL. Por otro lado, las antocianinas totales reportadas para ambas infusiones fueron de 0.043-0.045 mg eq C3G/mL de infusión. Como se observa, estos valores mostraron 2 veces menor contenido de fenoles totales con respecto a los reportados en este experimento.

Cuadro 10. Contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles de las decocciones de frutos rojos y cítricos

Decocción	Polifenoles extraíbles simples			Polifenoles extraíbles poliméricos
	Fenoles totales (mg eq AG/mL decocción)	Flavonoides totales (mg eq de rutina/mL decocción)	Antocianinas totales (mg eq C3G/mL decocción)	Proantocianidinas (mg eq catequina/mL decocción)
Fresa	0.34 ± 0.03 ^a	0.05 ± 0.04 ^{cd}	0.006 ± 0.00 ^b	1.55 ± 0.09 ^b
Mora azul	0.31 ± 0.02 ^a	0.23 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.00 ^a	3.83 ± 0.31 ^a
Naranja	0.14 ± 0.01 ^c	0.06 ± 0.03 ^{bc}	ND	ND
Mandarina	0.13 ± 0.01 ^c	0.04 ± 0.00 ^d	ND	ND
Toronja	0.22 ± 0.02 ^b	0.07 ± 0.02 ^b	ND	ND

Los valores representan la media ± la desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa (*p* exacta) con la prueba de Tukey. AG: ácido gálico; C3G: cianidina-3-glucósido. ND= no detectado.

De igual forma, las antocianinas totales fueron menores en las infusiones de té. Esto podría explicarse debido a los ingredientes que componen este tipo de té comerciales, los cuales usualmente son mezclas de frutos rojos secos, hojas y flores de otras especies (Šavikin et al., 2014); lo cual influye en la composición fitoquímica de estos productos. Para las muestras de té comerciales se identificó que se encontraban mezclados con flores de jamaica y grosella negra.

En el caso de los cítricos, la mayoría de las infusiones que se consumen se obtienen a partir de las cáscaras de estos, sobre todo en partes de Asia y África, de los cuales se encuentran algunas investigaciones. Ademosun y Oboh (2014) reportaron el contenido de fenoles totales de infusiones de cáscaras de toronja (0.65 mg eq

AG/mL de infusión) y de cáscaras de naranja (0.83 mg eq AG/mL de infusión). Estos resultados fueron mayores con respecto a los obtenidos en las decocciones de este estudio, debido a la mayor cantidad de compuestos polifenólicos que se encuentran retenidos en estos residuos, principalmente flavonoides como naringina, hesperidina, narirutina y neohesperidina (Karsheva et al., 2013).

La concentración de las proantocianidinas extraíbles como polifenoles poliméricos fue 2.5 veces mayor en la decocción de mora azul con respecto a la decocción de fresa; mientras que, estos compuestos no se detectaron en las decocciones de cítricos. Los frutos rojos son las mejores fuentes de proantocianidinas, siendo la mora azul uno de ellos (Rauf et al., 2019). Para los cítricos se ha reportado que estos compuestos se encuentran en pocas cantidades, tanto en las cáscaras como en los frutos completos (Hellström et al., 2009).

En general, se puede sugerir que la decocción es un método que extrae tanto compuestos polifenólicos simples como poliméricos, siendo estos últimos los que se presentaron en mayores proporciones. Se ha reportado que las extracciones acuosas (decocción) son efectivas en la extracción de proantocianidinas, explicando que los extractos de polifenoles obtenidos con solventes de mayor polaridad son más eficientes que los de menor polaridad (Cuong et al., 2019). Del mismo modo, se identificó que las decocciones de frutos rojos tuvieron mayor cantidad de polifenoles simples y poliméricos extraíbles que las de frutos cítricos. Existen estudios que han evaluado extracciones de compuestos polifenólicos en diferentes frutos cítricos, en las cuales se observa una mayor obtención de los mismos utilizando solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, que en extracciones acuosas, debido a que el carácter orgánico polar de estos disolventes favorece la solvatación de los compuestos, así como su habilidad para limitar la actividad de la enzima polifenol oxidasa, que es responsable de la oxidación de compuestos polifenólicos (Li et al., 2006; Papoutsis et al., 2018).

6.3 Caracterización sensorial de las decocciones de frutos rojos y cítricos

La identificación del perfil sensorial en los alimentos por parte de los consumidores es una etapa importante en el desarrollo de productos, ya que estas características sensoriales pueden lograr la aceptación o rechazo en el consumo de estos. Uno de los métodos más rápidos y prácticos muy utilizado a nivel académico e industrial de perfilado sensorial es CATA que, a partir del número de veces en que cada término sensorial de un producto es identificado en un cuestionario por los consumidores, permite describir y obtener información de la percepción del producto, que puede estar relacionado con su aceptación (de Aguiar et al., 2020).

Los resultados obtenidos en el perfilado sensorial de las decocciones mostraron diferencias significativas en el estadístico de Q de Cochran (p exacta), demostrando que los atributos de sabor evaluados son diferentes en cada decocción de frutos rojos y cítricos para los consumidores. En la Figura 4 se observan las frecuencias de consumidores que identificaron los sabores correspondientes en cada decocción, donde se puede considerar que las decocciones de naranja, mandarina y toronja se evaluaron con mayor frecuencia como ácidas, amargas y astringentes, en comparación con las decocciones de fresa y mora azul, que obtuvieron una menor frecuencia. La decocción de mora azul se identificó por más panelistas como la más dulce, seguida de la decocción de naranja y fresa. La decocción de toronja presentó mayor frecuencia en el sabor amargo, seguida de la de mandarina. Finalmente, la decocción de fresa fue identificada como la más ácida, respecto a las demás decocciones.

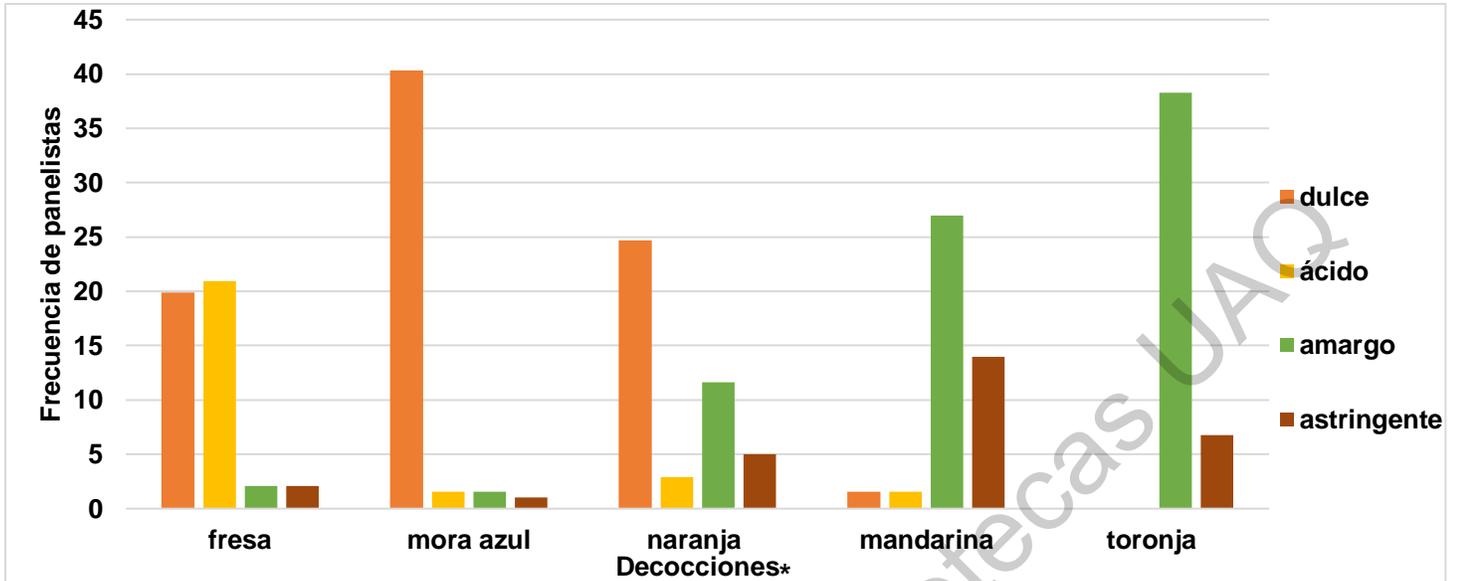


Figura 4. Perfilado sensorial Check-all-that-apply (CATA) de sabores de decocciones de frutos rojos y cítricos.

*Indica diferencias significativas (p exacta) entre los atributos evaluados en cada decocción por los panelistas a partir de la prueba de Q de Cochran.

Los compuestos polifenólicos pueden afectar de forma positiva o negativa las características sensoriales de los alimentos, teniendo impacto en su color, sabor y astringencia (Oliveira et al., 2014). Los polifenoles con bajo peso molecular contribuyen principalmente a sabores amargos; por otro lado, los de mayor peso molecular como los taninos, tienden a favorecer los sabores astringentes (Sun-Waterhouse y Wadhwa, 2013). La astringencia se define como la sensación táctil de sequedad y aspereza en la boca, generada por diferentes compuestos que incluyen a los polifenoles, sales metálicas, ácidos y agentes deshidratantes como los alcoholes (Lee y Vickers, 2010). Se sabe que los flavonoides como naringina, neohesperidina y limonina presentes en los frutos cítricos generan sabores amargos y astringentes (Russo et al., 2016). Para otros compuestos como las antocianinas, principalmente las que se encuentran libres en la matriz, se ha demostrado que no contribuyen a la astringencia de vino y orujo de uva (Soares et al., 2017), explicando con ello que los participantes no identificaron sabores astringentes en las decocciones de mora azul; ya que es uno de los frutos con mayor cantidad de antocianinas.

El sabor ácido identificado por más panelistas en la decocción de fresa se relaciona con su mayor porcentaje de acidez titulable (0.37%) que se muestra en las determinaciones anteriores. Además, se observó que esta decocción no fue calificada como la más frecuente en el sabor dulce. Esto puede relacionarse al equilibrio de sabor que aporta la acidez en la intensidad de dulzor, que es típico en la fresa (Temocico et al., 2019); mientras que el sabor dulce se detectó con mayor frecuencia en la mora azul, con respecto al sabor ácido.

La combinación de sabores amargos y astringentes en los alimentos y bebidas puede lograr un rechazo en su consumo (Melis et al., 2017). Para disminuir o enmascarar estos sabores en las decocciones de frutos cítricos, se elaboraron las bebidas utilizando una combinación de decocción de un fruto rojo (fresa o mora azul) con un fruto cítrico (naranja, mandarina o toronja), para equilibrar el perfil de sabores.

6.4 Elaboración de bebidas control a partir de las decocciones de frutos rojos y cítricos

Se elaboraron 6 diferentes bebidas a partir de una decocción de fruto rojo y otra de cítrico en una proporción 80:20 v/v de naranja-fresa, mandarina-fresa, toronja-fresa y naranja-mora azul, mandarina-mora azul y toronja-mora azul. Cabe mencionar, que para llegar a esta proporción, se probaron con anterioridad proporciones de decocción de fruto rojo/decocción fruto cítrico (20:80; 50:50). No obstante, solo la bebida con mayor proporción de decocción de fruto rojo logró enmascarar los sabores astringentes y amargos de los frutos cítricos. Para las diferentes formulaciones se utilizó azúcar como endulzante, ácido cítrico como regulador de pH y sorbato de potasio como conservador. La sacarosa o azúcar se considera como el edulcorante de referencia estándar; por otro lado, ésta tiene una mayor aceptabilidad sensorial y además logra un balance entre los sabores ácidos y amargos (Featherstone, 2015; Wilson, 2016). Posteriormente, se realizó una reformulación equivalente al dulzor de estas bebidas con azúcar con los edulcorantes no calóricos de sucralosa y acesulfame.

El ácido cítrico es uno de los ácidos orgánicos más utilizados en el procesamiento de alimentos y bebidas. Es un aditivo alimentario GRAS (reconocido generalmente como seguro) aprobado por el Comité Mixto de la FAO/OMS de Expertos en Aditivos alimentarios. El ácido cítrico actúa como regulador de pH final deseable que, en el caso de ser bajo, lo mantiene y evita el crecimiento de microorganismos (Quitmann et al., 2013). Finalmente, el ácido cítrico estimula el sabor natural de fruta y promueve sabores ácidos (Soccol et al., 2006).

El sorbato de potasio es una sal de potasio del ácido sórbico, el cual actúa de forma efectiva contra el crecimiento de mohos, levaduras y algunas bacterias. Esta sal actúa a pH bajo, pero también es eficiente en valores mayores de pH 6. Los sorbatos son fisiológicamente más seguros y menos tóxicos comparados con otros conservadores como los benzoatos (Petanovska-Ilievska et al., 2016).

6.5 Prueba de aceptabilidad de sabor para bebidas control de frutos rojos y cítricos

Uno de los procedimientos que nos permite evaluar la elección del consumidor sobre algún producto es el uso de escalas de calificación, que representan el grado de gusto o disgusto, también conocidas como escalas de aceptabilidad o pruebas de aceptación (Lawless y Heymann, 2010). En la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de aceptabilidad de las 6 bebidas de mezclas de frutos rojos y cítricos. La aceptabilidad se observa en una escala de 0 a 1, que corresponde a la escala hedónica de 5 puntos desde 1 me disgusta mucho hasta 5 me gusta mucho.

La prueba de Pearson mostró que todas las bebidas fueron evaluadas de manera diferente en la escala hedónica por cada uno de los participantes. De forma general se observa que la bebida de fresa-toronja tuvo menor frecuencia en el puntaje 5 (me gusta mucho). Por otro lado, la bebida de mora azul-mandarina tuvo mayor frecuencia en los puntajes de 3 a 5, mostrando que la aceptabilidad por esta combinación fue mayor que todas las bebidas.

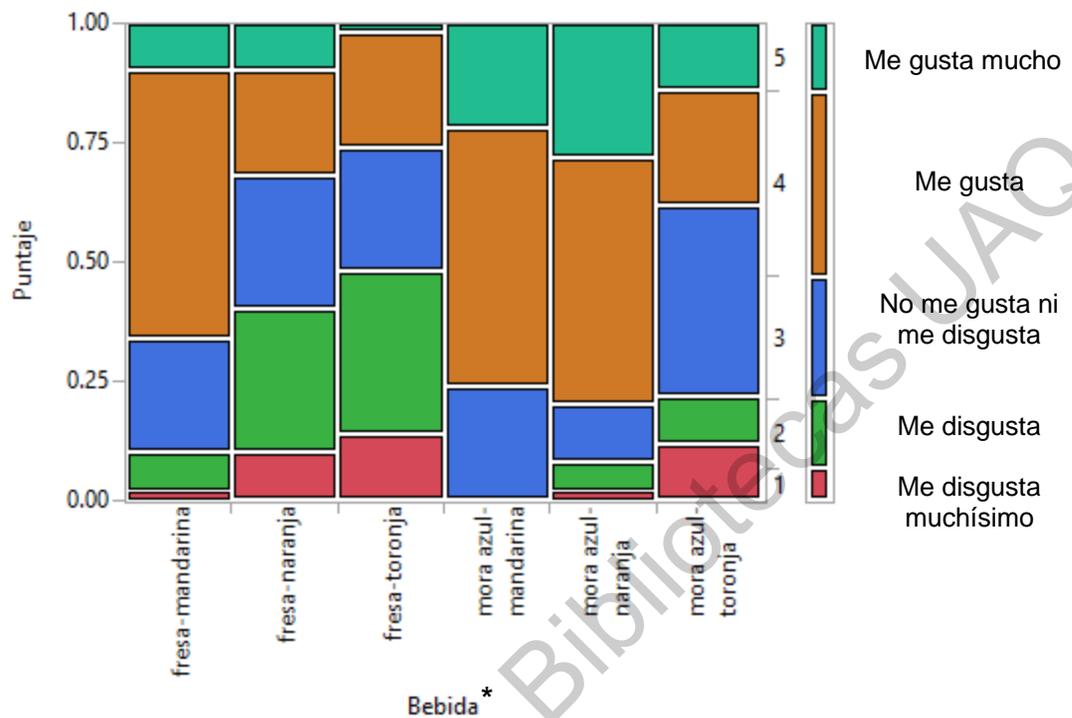


Figura 5. Gráfico de mosaico para prueba de aceptabilidad de bebidas de frutos rojos y cítricos.

*Indica diferencia significativa en la evaluación de la aceptabilidad en las bebidas (p exacto) a partir de la prueba de Pearson.

En el Cuadro 11 se presenta el número y porcentaje de consumidores en cada puntaje de las bebidas evaluadas. Para cada una de las bebidas elaboradas a partir de fresa con un fruto cítrico se observa que del 2% al 10% de los consumidores las califica con el mayor puntaje (5); mientras que las bebidas con mora azul y un fruto cítrico del 14 al 28% de los consumidores, las califica en dicho puntaje. Estos resultados se identifican en las celdas color verde.

Por otro lado, se identificó que las bebidas elaboradas con decocción de mandarina fueron de mayor aceptabilidad de todos los cítricos. La bebida de fresa-mandarina fue calificada por un 56% de panelistas en el puntaje 4; mientras que, la bebida de mora azul-mandarina fue calificada por un 54% de los panelistas.

No obstante, la aceptabilidad general de las bebidas fue baja, encontrándose un máximo porcentaje de un 33% de panelistas en el puntaje 5 (me gusta mucho), indicados en las celdas color naranja; lo cual corresponde a menos del 50% de la población. Además, dentro de los comentarios generales por parte del panel no entrenado, se mencionó que en la bebida de fresa-mandarina se distinguía un resabio desagradable; mientras que, la bebida de fresa-naranja fue identificada con un sabor muy ácido. Por otro lado, las bebidas que contenían toronja fueron descritas con un sabor amargo, tanto al inicio como al final de su degustación. En las bebidas de mora azul se identificaron sabores un poco más dulces, pero con astringencia en la garganta y resabio.

Cuadro 11. Conteo de panelistas para cada puntaje de evaluación de las bebidas de frutos rojos y cítricos

Bebida	Conteo	Puntaje				
	% columna	1	2	3	4	5
	% filas	Me disgusta mucho	Me disgusta	No me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
Fresa-mandarina		1	4	12	28	5
		5.00	9.09	15.58	24.14	11.63
Fresa-naranja		2.00	8.00	24.00	56.00	10.00
		5	15	14	11	5
		25.00	34.09	18.18	9.48	11.63
Fresa-toronja		10.00	30.00	28.00	22.00	10.00
		7	17	13	12	1
		35.00	38.64	16.88	10.34	2.33
Mora azul-mandarina		14.00	34.00	26.00	24.00	2.00
		0	0	12	27	11
		0.00	0.00	15.58	23.28	25.58
Mora azul-naranja		0.00	0.00	24.00	54.00	22.00
		1	3	6	26	14
		5.00	6.82	7.79	22.41	32.56
Mora azul-toronja		2.00	6.00	12.00	52.00	28.00
		6	5	20	12	7
		30.00	11.36	25.97	10.34	16.28
		12.00	10.00	40.00	24.00	14.00

Los diferentes resultados de preferencia de las bebidas elaboradas con ambas decocciones de frutos rojos y cítricos pueden relacionarse a las variantes de perfil de sabor que cada una de ellas aporta. La mayor preferencia de las bebidas de mandarina puede relacionarse a que los sabores amargos y astringentes que presenta esta decocción logran enmascararse con el sabor dulce que prevalece tanto en la decocción de fresa como en la mora azul, de acuerdo con lo reportado por Kelanne y colaboradores (2019), quienes sugieren que los azúcares tanto agregados como de los frutos mismos enmascaran los sabores amargos y astringentes. Este mismo efecto explica incluso la mayor preferencia de las bebidas con decocciones de mora azul con respecto a las elaboradas con decocción de fresa, ya que el mayor sabor dulce detectado en éstas disminuye la amargura y astringencia proporcionada por los frutos cítricos.

Por consiguiente, a pesar de que las bebidas a base de mandarina tuvieron una aceptabilidad mayor con respecto a las demás, y que podrían ser las seleccionadas para los siguientes objetivos de este proyecto, como se mostró anteriormente, las decocciones de mandarina presentaron baja concentración de compuestos polifenólicos simples y poliméricos, y que al añadirse un 20% de la decocción de mandarina a la formulación, la cantidad de compuestos polifenólicos en la bebida final no sería significativa. Aunado a que el panel sensorial identificó sabores astringentes y amargos por las decocciones de cítricos, se decidió trabajar únicamente en la formulación de bebidas con los frutos rojos fresa y mora azul para el desarrollo de los objetivos siguientes.

6.6 Estudio de las condiciones de extracción de polifenoles totales de residuos de decocción de fresa y mora azul

Se ha demostrado que diferentes residuos son una fuente de compuestos bioactivos, los cuales requieren de un proceso de extracción adecuado para ser aprovechados (Wijngaard et al., 2012). El rendimiento de la extracción de estos compuestos depende de la matriz de extracción, el método empleado (químico o físico) y la influencia de ciertos factores como la temperatura y el tiempo (Hidalgo y

Almajano, 2017). Los resultados obtenidos a partir del diseño de segundo orden en la extracción de polifenoles y proantocianidinas totales de los residuos de decocción se muestran en el Cuadro 12. El modelo aplicado fue adecuado para la extracción de fenoles totales de los residuos de decocción de fresa y mora azul, ya que presentó una significancia global ($p < 0.0001$), ayudando a explicar la variabilidad observada en la respuesta. Sin embargo, el coeficiente de determinación (R^2) fue relativamente bajo para ambos casos (0.72 y 0.53), el cual indica el porcentaje de los datos que pueden ser explicados en el modelo empleado. Finalmente, se identificó una carencia de ajuste de los datos al modelo, lo que no explica completamente la relación entre los fenoles totales extraídos de acuerdo con la temperatura, tiempo y concentración del residuo utilizados. Por otro lado, no se identificó un punto donde se maximizara la extracción de compuestos fenólicos. En este caso, se localizó sólo un punto silla, donde la superficie crece o decrece en alguna dirección del sistema, es decir, que es necesario seguir explorando en regiones experimentales circundantes a las condiciones experimentadas para eventualmente encontrar el punto estacionario máximo de respuesta.

Del mismo modo, se identificó que para los residuos de decocción de fresa, el tiempo y la concentración fueron los factores lineales que arrojaron una significancia en la extracción de fenoles totales, mientras que para los residuos de decocción de mora azul, la temperatura y la concentración fueron importantes en dichos compuestos.

Cuadro 12. Coeficientes de regresión estimados y análisis de varianza de los modelos polinomiales de segundo orden ajustados para la extracción de fenoles y proantocianidinas totales de los residuos de decocción de fresa y mora azul

	Fresa		Mora azul	
	Fenoles totales (mg AG/g)	Proantocianidinas (mg eq catequina/g)	Fenoles totales (mg AG/g)	Proantocianidinas (mg eq catequina/g)
	<i>p</i> -valor *			
Modelo	<0.0001	0.0011	<0.0001	<0.0001
X₁: temperatura	0.2018	0.3090	<0.0001	0.8548
X₂: tiempo	0.0039	0.7907	0.8073	0.7431
X₃: Concentración	<0.0001	0.3748	<0.0001	0.4256
X₁X₂	0.0424	0.7782	0.7835	0.7761
X₁X₃	0.0060	0.7597	<0.0001	0.9525
X₂X₃	0.0136	0.4572	0.8541	0.1046
X₁²	0.0099	0.4450	0.3251	0.5783
X₂²	0.0123	0.8625	0.0465	0.4642
X₃²	<0.0001	0.5177	0.2267	0.2163
R²	0.7200	0.4002	0.8709	0.5312
Carencia de ajuste	<0.0001	0.2211	<0.0001	0.5071

*AG: ácido gálico.

En la Figura 6 se puede observar que a menores niveles de concentración del residuo se logró una mayor extracción de fenoles totales para fresa y mora azul. Del mismo modo, se observa que la temperatura fue un factor con importancia significativa en la extracción de fenoles totales de mora azul, ya que cuando se aumenta el nivel de temperatura, se obtiene una mayor respuesta de extracción de estos. En un estudio de extracción de compuestos fenólicos totales en orujo de vino de mora azul, la temperatura y la concentración también fueron estadísticamente significativos en el término lineal ($p= 0.0008$ y $p<0.0001$), así como la interacción de ambos ($p= 0.04$) (He et al., 2016).

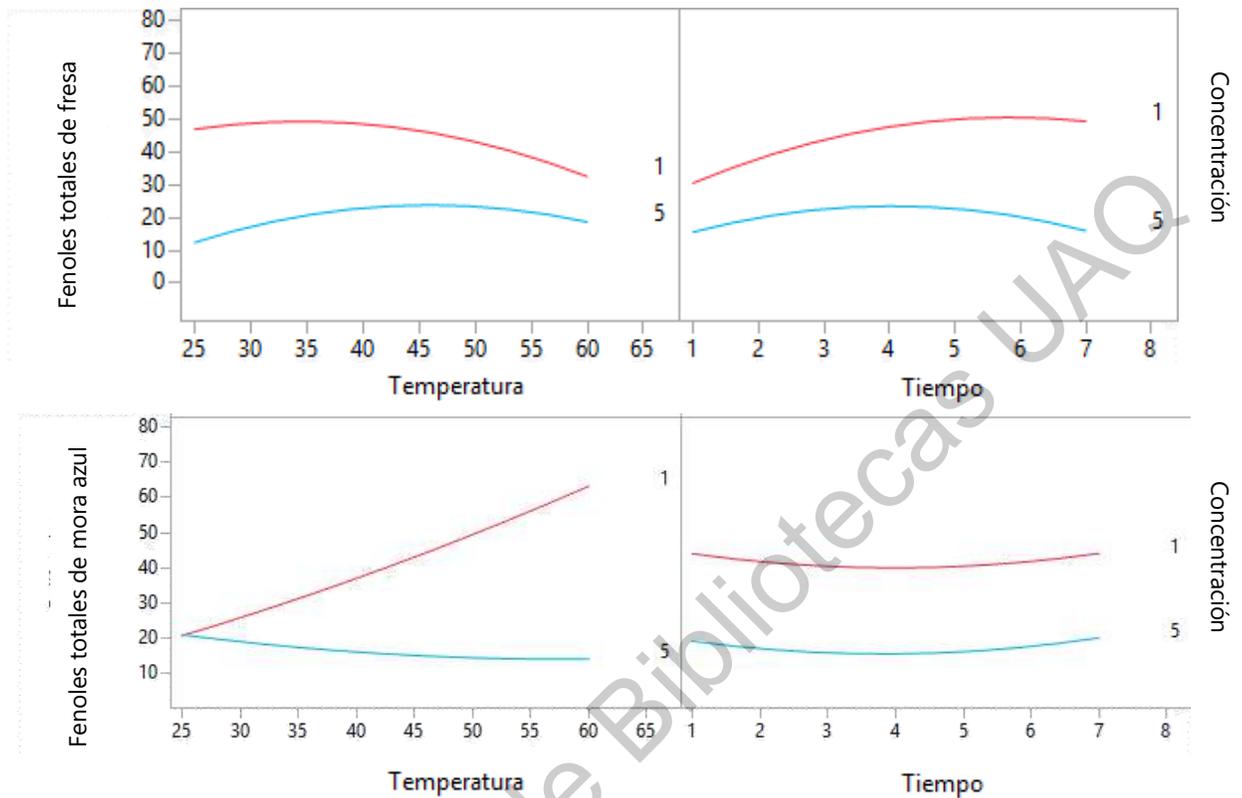


Figura 6. Gráfico de interacción de la temperatura y el tiempo con la concentración en la extracción de fenoles totales de fresa y mora azul en los residuos de decocción.

La línea roja representa el nivel mínimo de concentración del residuo (1%). La línea azul representa el nivel máximo de concentración del residuo (5%).

Las proantocianidinas se encuentran principalmente en forma de propelargonidinas en los frutos de fresa, mientras que en la mora azul se han encontrado como procianidinas; donde se ha demostrado que los residuos del procesamiento de jugos de mora azul retienen del 25% al 50% de las proantocianidinas de los frutos frescos (Khanal et al., 2009). El diseño de segundo orden mostró que para las proantocianidinas, únicamente el modelo fue adecuado en los residuos de mora azul; sin embargo, a pesar de que los datos se ajustaron al mismo ($p < 0.0001$), el valor de R^2 fue bajo (0.53). Con respecto a los factores y niveles empleados en el diseño, se observó que ninguno de ellos fue estadísticamente importante en la extracción de estos compuestos poliméricos como se observa en el Cuadro 12.

No obstante, se ha reportado que la temperatura es un factor importante en la extracción de proantocianidinas; ya que a mayores temperaturas (80 °C-140 °C) utilizando como solventes etanol/agua (50 % v/v), se favorece la extracción de estas (Morand et al., 2011). No obstante, la mayoría de los estudios de extracción de proantocianidinas en residuos se han realizado en orujos o residuos de uva provenientes de la elaboración del vino, por lo que se requiere de mayores evidencias que puedan explicar este comportamiento.

Las extracciones de proantocianidinas presentan un mayor rendimiento cuando se utilizan solventes orgánicos como acetona o acetona/agua; incluso si se acidifican con HCl en un intervalo de 0.5%-1% (Putnik, 2016), ya que las proantocianidinas son estables a pH de 4-6, siendo que esta acidificación disocia estas moléculas de la matriz vegetal. Sin embargo, estos reactivos no son seguros en la aplicación de una bebida, al no ser de grado alimenticio.

Por lo tanto, al no verse afectada la extracción de proantocianidinas por las condiciones de temperatura, tiempo y concentración aplicadas, se decidió estudiar sus efectos en las antocianinas. Como se ha mencionado, las antocianinas se encuentran de manera importante en estos frutos rojos y presentan una mayor sensibilidad en las condiciones de extracción empleadas. Además, de acuerdo con los resultados encontrados en la extracción de fenoles totales, se decidió explorar otros niveles de los factores en estudio, aumentando la temperatura (80 °C), reduciendo la concentración del residuo de decocción (3%) y disminuyendo el tiempo de extracción (5 h), para buscar una mejor respuesta de extracción.

En el Cuadro 13 se presentan los coeficientes de regresión estimados y el análisis de varianza de los modelos de segundo orden ajustados a los nuevos niveles de los factores de temperatura, tiempo y concentración en la extracción de fenoles totales y antocianinas de los residuos de decocción estudiados. En el caso de los fenoles totales, el modelo fue el adecuado ($p < 0.0001$), tanto en los residuos de decocción de fresa como de mora azul. Además, el coeficiente de determinación fue

relativamente bajo (0.73 y 0.65) en ambas extracciones. Finalmente, ambos residuos de decocción presentaron una carencia de ajuste de los datos al modelo aplicado, por lo que en esta región explorada no se logró encontrar un punto máximo de respuesta de extracción, sino más bien un punto silla, como en las condiciones anteriormente probadas.

Cuadro 13. Coeficientes de regresión estimados y análisis de varianza de los modelos polinomiales de segundo orden ajustados para la extracción de fenoles y antocianinas totales de los residuos de decocción de fresa y mora azul.

	Fresa		Mora azul	
	Fenoles totales (mg AG/g)	Antocianinas (mg eq C3G/g)	Fenoles totales (mg AG/g)	Antocianinas (mg eq C3G/g)
	<i>p</i> -valor *			
Modelo	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
X₁: temperatura	0.8969	0.0134	0.1780	0.0068
X₂: tiempo	<0.0001	0.0010	<0.0001	0.0137
X₃: Concentración	0.0462	0.0085	0.1401	0.0093
X₁X₂	0.5217	<0.0001	0.1765	0.0966
X₁X₃	0.0014	0.2950	0.0002	<0.0001
X₂X₃	0.1938	0.0680	0.0032	0.0005
X₁²	0.9242	0.7264	0.2243	0.0020
X₂²	0.0723	0.6580	0.1369	0.0076
X₃²	<0.0001	0.7973	0.1862	0.1285
R²	0.7315	0.6592	0.6540	0.6897
Carencia de ajuste	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

*AG: ácido gálico; C3G: cianidin-3-O-glucósido.

Los factores significativos en la forma lineal fueron el tiempo de extracción y la concentración solo para los fenoles totales del residuo de decocción de fresa. La temperatura para este caso no fue significativa, aun cuando se logró aumentar el nivel máximo. Esto es interesante ya que se conoce que el calentamiento aplicado en una matriz favorece el proceso de extracción de los compuestos bioactivos, incrementando la difusión del soluto, acelerando la transferencia de masa, solubilizando los compuestos y reduciendo las interacciones entre la matriz y el

soluto (Melo et al., 2015). No obstante, este resultado se relaciona a que el residuo de la decocción se sometió a una primera extracción en la decocción y, por lo tanto, la temperatura en la extracción de etanol-agua no logra incrementar la difusión del soluto.

Finalmente, en la Figura 7 se muestran los comportamientos de cada uno de los factores en la extracción de fenoles totales de ambos residuos, donde además de observar que la temperatura no influyó en la variable de respuesta, también se identifica que para ambos residuos es preferible utilizar un menor tiempo de extracción o incluso hasta un tiempo intermedio, lo que nos demuestra que en estas matrices, un mayor tiempo no garantiza una mayor extracción. Kazemi y colaboradores (2016), por el contrario, obtuvieron una mayor concentración de compuestos fenólicos totales como la punicalagina y ácidos hidroxibenzoicos en cáscaras de granada incrementando el tiempo de extracción. Una extracción por más tiempo permite la ruptura las paredes celulares, favoreciendo la entrada del solvente, la disolución de los compuestos presentes y aumento del rendimiento de la extracción.

La extracción de compuestos fenólicos como las antocianinas de diferentes residuos de frutos es un proceso importante que busca aprovechar los beneficios a la salud que éstas aportan para ser utilizadas como ingredientes bioactivos en alimentos como las bebidas.

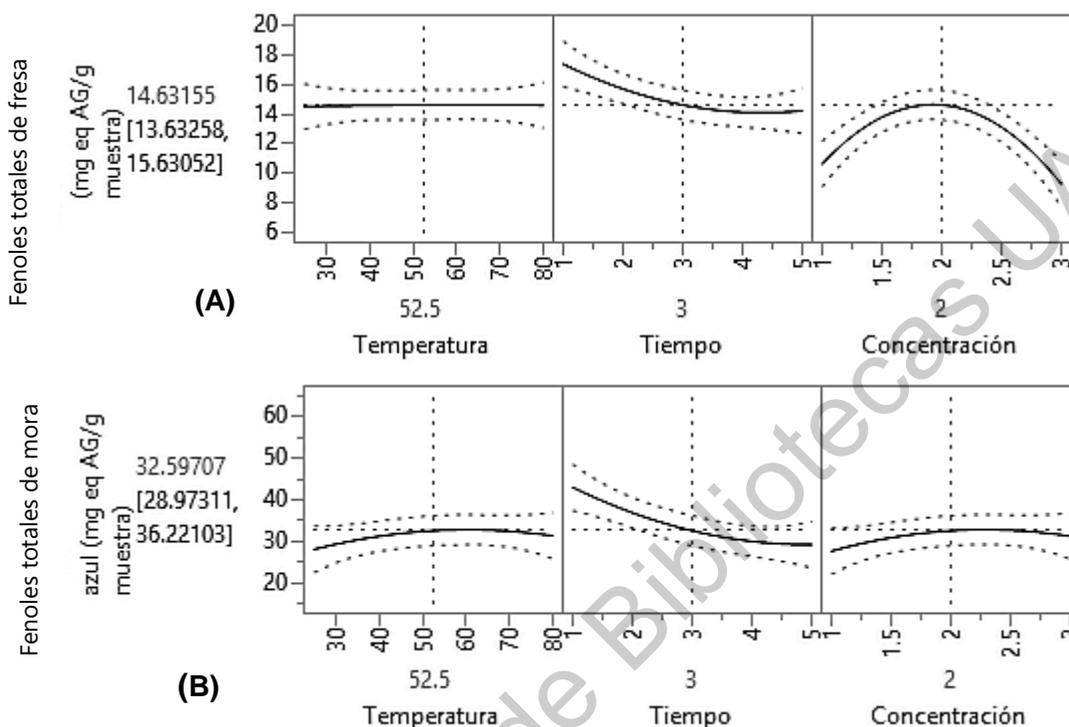


Figura 7. Factores de extracción de compuestos fenólicos totales de residuos de decocción: temperatura, tiempo y concentración.

(A) Residuos de decocción de fresa; (B) Residuos de decocción de mora azul.

En este caso, el modelo de segundo orden aplicado logró una significancia global en la extracción de las antocianinas de los residuos de decocción de fresa y mora azul; sin embargo, el valor de R^2 siguió mostrando valores bajos y los datos presentaron una carencia de ajuste al modelo. No obstante, se observó que los factores lineales de la temperatura, tiempo y concentración fueron significativos en la extracción aplicada, además de sus interacciones como temperatura-tiempo y tiempo-concentración para ambos residuos. En el residuo de fresa se observó que la interacción del tiempo de extracción con la temperatura y concentración fueron significativas, como se observa en la Figura 8. Si el tiempo se aumenta, sin importar el nivel de concentración del residuo, la extracción de antocianinas se disminuye. Además, si la temperatura y el tiempo se aumentan, esta extracción se aumenta. En el residuo de mora azul, la interacción de la concentración y temperatura

muestran que a mayores temperaturas aplicadas hay una menor extracción. Sin embargo, cuando se emplean tiempos y concentraciones de extracto intermedias, se favorece esta extracción.

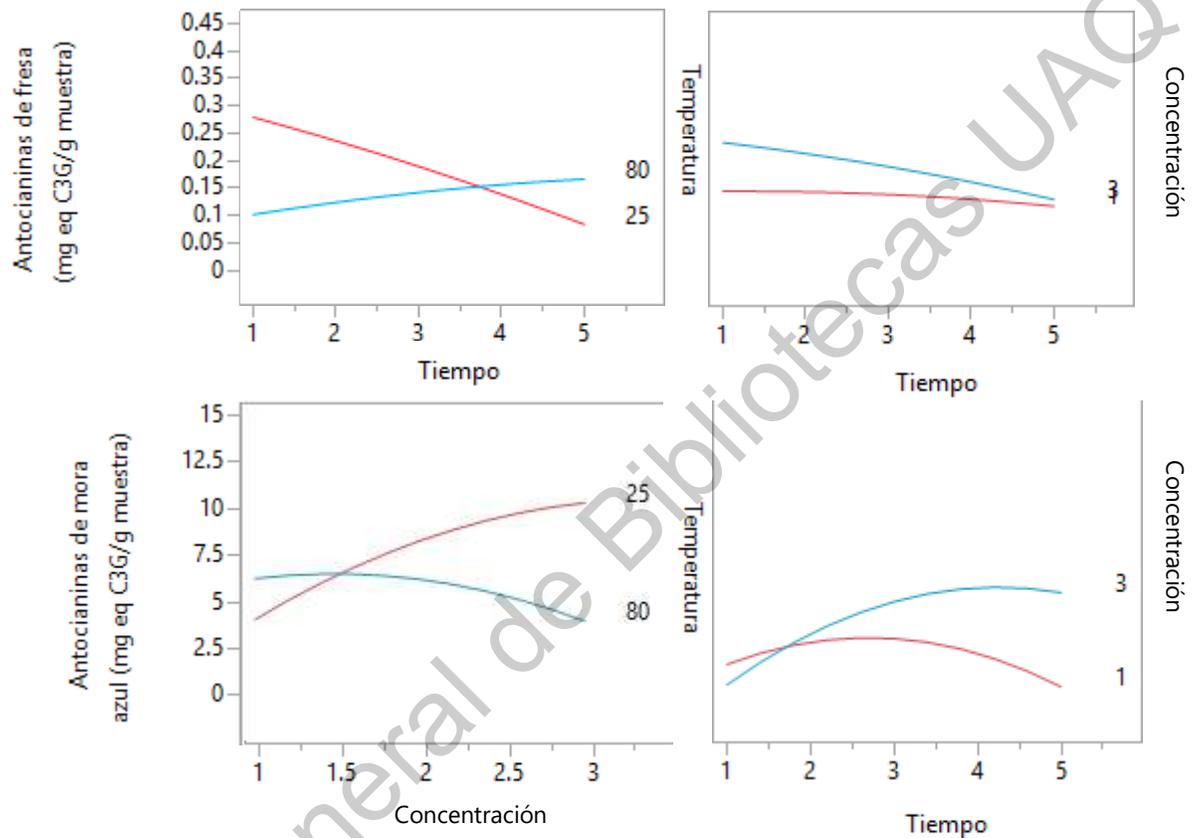


Figura 8. Gráfico de interacción de la temperatura, tiempo y concentración en la extracción de antocianinas totales de fresa y mora azul en los residuos de decocción.

La línea roja representa el nivel mínimo de temperatura o concentración del residuo (25 °C o 1%). La línea azul representa el nivel máximo de temperatura o concentración del residuo (80 °C o 5%).

La temperatura, la concentración del soluto (radio líquido-sólido) y el tiempo de sonicación, a semejanza de este estudio, fueron factores significativos en la respuesta de extracción de antocianinas totales de un residuo de orujo de uva proveniente de la elaboración de vinos, así como los términos cuadráticos correspondientes (He et al., 2016).

La solubilidad de las antocianinas depende del número, tipo y posición de los enlaces de los azúcares dentro de la molécula (Lapornik et al., 2005). En la Figura 9 se observa que para el caso de las antocianinas del residuo de fresa, conforme se incrementa la temperatura, se disminuye su concentración. En los residuos de mora azul, por el contrario, se puede identificar que el incremento de la temperatura disminuye la extracción de antocianinas, sin embargo, transcurrido el tiempo, se extraen nuevamente antocianinas.

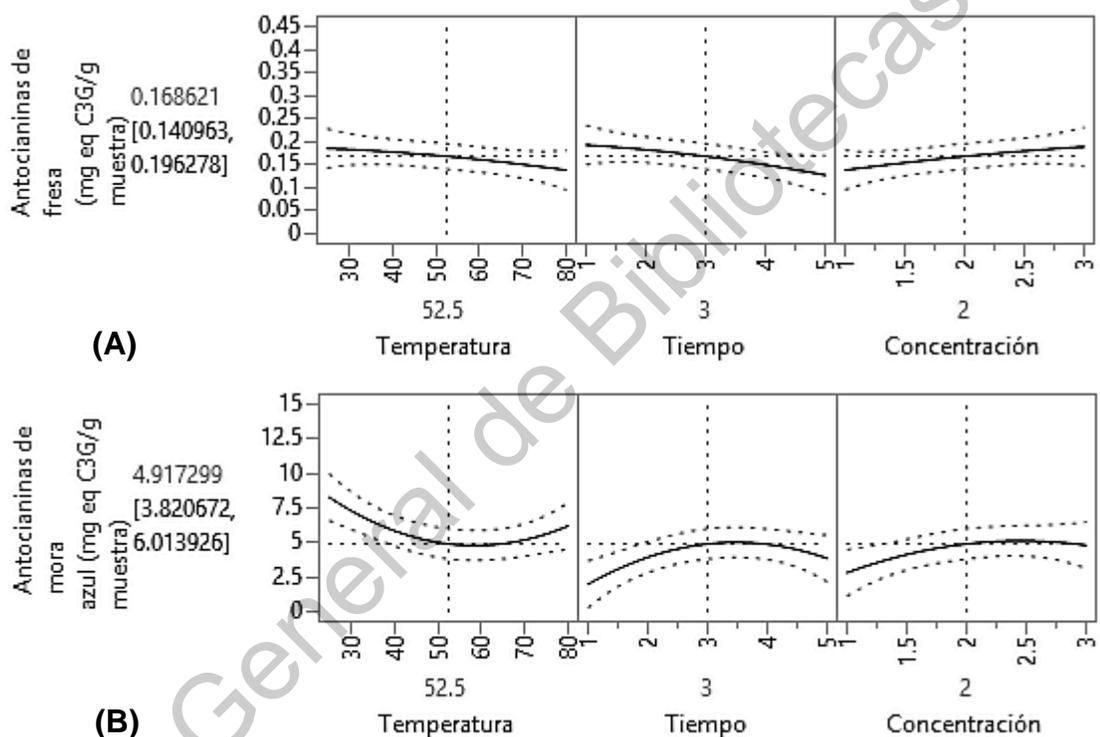


Figura 9. Factores de extracción de antocianinas totales de residuos de decocción: temperatura, tiempo y concentración.

(A) Residuos de decocción de fresa; (B) Residuos de decocción de mora azul.

La temperatura es un factor que favorece la extracción de antocianinas, debido a que incrementa su solubilidad en el solvente, sin embargo, también favorece la degradación de estos compuestos; por lo que es de gran importancia encontrar la temperatura óptima que permita extraer y conservar la mayor concentración de estos compuestos (He et al., 2016). El comportamiento observado en este experimento se relaciona con la mora azul que presenta cerca del 98.2 % de sus

antocianinas totales en la cáscara, lo cual dificulta su liberación, debido a la pared celular que actúa como barrera (Jiang et al., 2020); sin embargo, conforme se sigue incrementando la temperatura, esta barrera puede romperse y libera antocianinas que aún quedan retenidas.

Debido a la diversidad de los compuestos polifenólicos, la extracción de estos no es un proceso general y por lo tanto los métodos de extracción deben desarrollarse para cada grupo específico de compuestos polifenólicos que se encuentran en cada material vegetal empleado (Klavins et al., 2018). A pesar de que los niveles de los factores se modificaron, el punto estacionario máximo de la respuesta de extracción de fenoles y antocianinas totales en los residuos de decocción no se encontró en el área explorada. Por lo que se procedió a realizar una prueba de comparación de medias de Tukey, buscando las condiciones de temperatura, tiempo y concentración necesarias para obtener una mayor extracción de fenoles y antocianinas totales en los residuos de decocción de fresa y mora azul. Las respuestas de mayor extracción de fenoles y antocianinas totales para los residuos de fresa fue una temperatura intermedia (52.5 °C), el mínimo tiempo de extracción (1 h) y concentración intermedia (2%). El contenido de fenoles totales correspondiente a estas condiciones fue de 16.71 mg eq de ácido gálico/g y de antocianinas totales 0.24 mg eq de cianidina-3-O-glucósido/g (Cuadro 14). En el caso de los residuos de decocción de mora azul, la temperatura y la concentración del residuo fueron similares, excepto que el tiempo de extracción fue mayor (3 h), logrando una concentración de 34.03 mg eq ácido gálico/g para fenoles totales y 9.60 mg eq cianidina-3-O-glucósido para antocianinas totales (Cuadro 15).

A partir de estas condiciones de extracción, se procedió a elaborar las distintas bebidas enriquecidas con los extractos de residuos de decocción, y con ello su posterior aceptación sensorial y caracterización fisicoquímica y fitoquímica.

Cuadro 14. Respuestas de extracción de fenoles y antocianinas totales de residuos de decocción de fresa a diferentes condiciones

Fenoles totales				Antocianinas totales			
T (°C)	t (h)	C (%)	mg eq AG/g	T (°C)	t (h)	C (%)	mg eq C3G/g
52.5	1	2	16.71 ± 1.22 ^a	25	1	3	0.35 ± 0.06 ^a
25	1	1	16.02 ± 0.08 ^{ab}	52.5	1	2	0.24 ± 0.02 ^b
52.5	3	2	15.82 ± 0.94 ^{ab}	80	3	2	0.22 ± 0.01 ^b
80	1	3	15.64 ± 0.48 ^{ab}	52.5	3	2	0.21 ± 0.02 ^{bc}
80	3	2	15.31 ± 1.50 ^{ab}	25	1	1	0.21 ± 0.03 ^{bc}
52.5	5	2	15.14 ± 0.58 ^{ab}	52.5	3	3	0.18 ± 0.01 ^{bcd}
25	3	2	14.04 ± 0.42 ^{abc}	80	5	3	0.16 ± 0.02 ^{cde}
52.5	3	2	13.90 ± 0.28 ^{bc}	52.5	3	1	0.16 ± 0.01 ^{cde}
52.5	3	1	12.15 ± 1.49 ^{cd}	80	5	1	0.13 ± 0.01 ^{def}
80	5	1	10.71 ± 0.94 ^{de}	25	3	2	0.11 ± 0.01 ^{ef}
25	1	3	10.36 ± 0.73 ^{de}	25	5	3	0.11 ± 0.00 ^{ef}
25	5	1	9.54 ± 1.50 ^{de}	52.5	3	2	0.10 ± 0.00 ^{ef}
80	1	1	9.36 ± 0.45 ^e	25	5	1	0.10 ± 0.01 ^{fg}
25	5	3	8.81 ± 0.17 ^e	52.5	5	2	0.10 ± 0.01 ^{fg}
80	5	3	8.17 ± 0.18 ^e	80	1	3	0.09 ± 0.00 ^{fg}
52.5	3	3	8.02 ± 1.06 ^e	80	1	1	0.04 ± 0.00 ^g

Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa (*p* exacta) por prueba de Tukey. T: temperatura; t: tiempo; C: concentración; AG: ácido gálico; C3G: cianidina-3-O-glucósido. Celdas sombreadas indican las condiciones elegidas para cada compuesto polifenólico.

Cuadro 15. Respuestas de extracción de polifenoles y antocianinas totales de residuos de decocción de mora azul a diferentes condiciones

Fenoles totales				Antocianinas totales			
T (°C)	t (h)	C (%)	mg eq AG/g	T (°C)	t (h)	C (%)	mg eq C3G/g
80	1	3	61.26 ± 1.62 ^a	25	5	3	12.68 ± 0.75 ^a
25	1	1	40.09 ± 2.21 ^b	52.5	3	2	9.60 ± 0.31 ^b
52.5	1	2	39.82 ± 3.19 ^b	25	3	2	8.98 ± 0.50 ^b
52.5	3	2	34.03 ± 2.68 ^{cd}	80	1	1	4.87 ± 0.36 ^c
52.5	5	2	33.18 ± 0.60 ^{de}	80	5	3	4.43 ± 0.66 ^{cd}
25	3	2	32.42 ± 2.22 ^{def}	80	5	1	4.37 ± 0.50 ^{cd}
52.5	3	3	31.20 ± 1.78 ^{def}	25	1	3	4.27 ± 0.42 ^{cde}
52.5	3	2	29.71 ± 2.38 ^{def}	52.5	3	2	4.03 ± 0.33 ^{cde}
52.5	3	1	28.45 ± 2.24 ^{defg}	80	3	2	3.64 ± 0.05 ^{def}
80	3	2	27.75 ± 0.88 ^{efgh}	52.5	3	1	3.12 ± 0.32 ^{ef}
80	5	1	26.97 ± 2.57 ^{fgh}	52.5	3	3	2.62 ± 0.04 ^{fg}
25	1	3	26.63 ± 2.02 ^{fghi}	52.5	1	2	2.51 ± 0.16 ^{fgh}
80	1	1	23.36 ± 0.80 ^{ghij}	25	1	1	1.84 ± 0.09 ^{gh}
25	5	1	22.08 ± 0.32 ^{hij}	80	1	3	1.49 ± 0.04 ^{gh}
25	5	3	20.79 ± 0.97 ^{ij}	52.5	5	2	1.46 ± 0.12 ^{gh}
80	1	1	19.08 ± 1.66 ^j	25	5	1	1.38 ± 0.16 ^h

Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa (*p* exacta) por prueba de Tukey. T: temperatura; t:

tiempo; C: concentración; AG: ácido gálico; C3G: cianidina-3-O-glucósido. Celdas sombreadas indican las condiciones elegidas para cada compuesto polifenólico.

6.7 Elaboración de bebidas control y enriquecidas de las decocciones de fresa y mora azul

Los extractos obtenidos a partir de los residuos de decocción son ricos en compuestos polifenólicos tanto simples como poliméricos, sin embargo, la adición de estos residuos genera cambios en el perfil sensorial del producto final, principalmente en el sabor, ya que estos compuestos aportan sabor astringente y amargo, que puede disminuir su aceptabilidad final (Benvenuti et al., 2019).

Por lo tanto, se realizó una prueba de comparación de pares para seleccionar la concentración de extracto adicionada a la bebida control. A partir de las pruebas sensoriales se preparó una bebida con 10% de extracto adicionado y otra con 15% de extracto, de los 3 sabores previamente mencionados; fresa, mora azul y fresa-mora azul. De acuerdo a la caracterización de los compuestos polifenólicos simples y poliméricos de los extractos (Anexos), cada uno de estos extractos equivale a 7.2 mg eq AG/100 mL (bebida de fresa con 10% de extracto de residuo de decocción), 10.8 mg eq AG/100 mL (bebida de fresa con 15% de residuo de decocción), 11.6 mg eq AG/100 mL (bebida de mora azul al 10% de residuo de decocción) y 17.4 mg eq AG/100 mL (bebida de mora azul al 15% de residuo de decocción). El análisis de los resultados obtenidos en esta prueba de comparación de pares se realizó de acuerdo con Lawless y Heyman (2010), para evaluar si existió una preferencia significativa de aceptación de una bebida por otra. En la evaluación sensorial participaron 45 panelistas, por lo que, de acuerdo con las tablas del valor mínimo requerido para una preferencia significativa, se requiere que al menos 30 panelistas muestren preferencia de cierta bebida sobre la otra. Como se puede observar en la Figura 10, el número de panelistas que eligieron las bebidas evaluadas no fue estadísticamente significativo. El máximo número de panelistas que seleccionaron una bebida fue de 28. Por lo tanto, como la preferencia del panel evaluador por una bebida no se observó, esto dio pauta para seleccionar la bebida que tuviera mayor cantidad de extracto adicionado de cada uno de los sabores y con ello aprovechar

su contenido polifenólico. En el Cuadro 16 se presentan las formulaciones finales de las bebidas control, las cuales se elaboraron con las decocciones y los aditivos ya mencionados, mientras que las bebidas enriquecidas consistieron en las decocciones, aditivos y un 15% del extracto de residuo de decocción rico en polifenoles simples y poliméricos extraíbles.

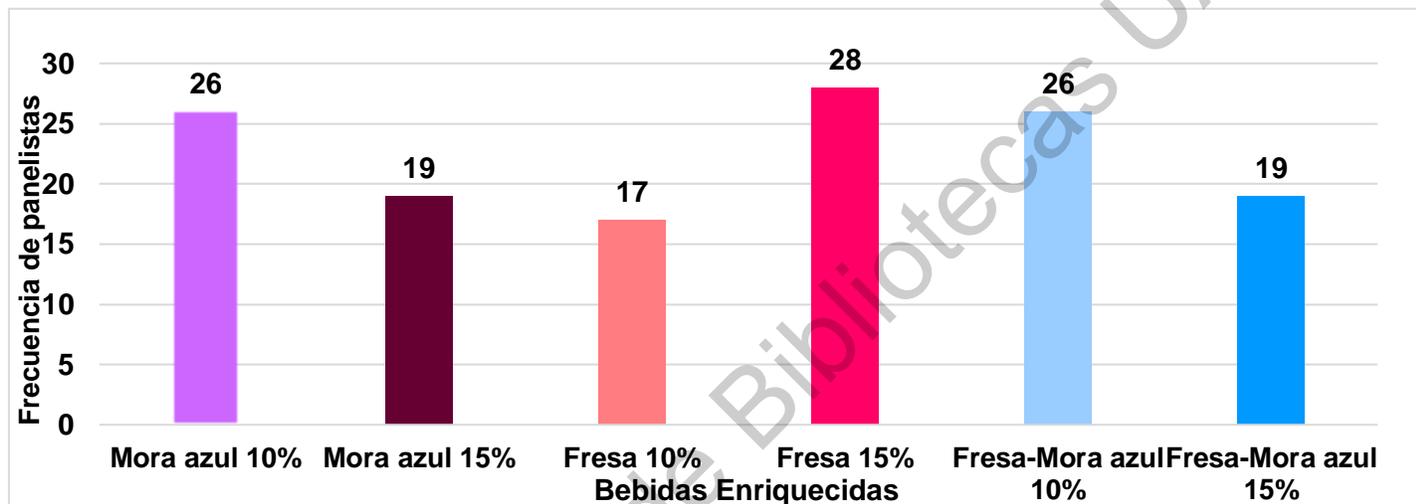


Figura 10. Preferencias de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles a partir de prueba de comparación de pares

Cuadro 16. Formulaciones de bebidas control y enriquecidas de decocciones de fresa y mora azul

Componentes (%) ¹	Bebidas control			Bebidas enriquecidas		
	Fresa	Mora azul	Fresa-Mora azul	Fresa	Mora azul	Fresa-Mora azul
Decocción fresa	96.8	-	48.6	83.5	-	41.7
Decocción mora azul	-	96.8	48.6	-	83.5	41.7
Extracto de fresa	-	-	-	15	-	7.5
Extracto de mora azul	-	-	-	-	15	7.5
Sorbato de potasio	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
Sucralosa	0.6	0.6	0.4	0.25	0.25	0.25
Acesulfame	0.6	0.6	0.4	0.25	0.25	0.25
Ácido cítrico	1.4	1.4	1.4	0.5	0.5	0.5

¹Porcentajes expresados por cada 100 mL de bebida

6.8 Caracterización física, química y contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles de las bebidas control y bebidas enriquecidas de fresa y mora azul

6.8.1 Características físicas y químicas

Las características físicas y químicas en las bebidas no alcohólicas son evaluadas no solo para conocer las propiedades de esta, sino para monitorear los parámetros de calidad que éstas deben cumplir para evitar su contaminación o incluso la pérdida de dichas propiedades y de los compuestos bioactivos que ésta contenga, ya sea en su preparación, almacenamiento o distribución.

Las propiedades físicas y químicas de las bebidas enriquecidas presentaron algunas diferencias debido al extracto adicionado, con respecto a las bebidas control (Cuadro 17). El pH de las bebidas enriquecidas aumentó con respecto a las bebidas control correspondientes, siendo así que su acidez titulable se incrementó. Por otro lado, a pesar de que este cambio fue estadísticamente significativo (a excepción de la bebida de fresa-mora enriquecida), las bebidas cumplen con las características que un alimento acidificado debe presentar ($\text{pH} \leq 4.6$), evitando la germinación de patógenos como *Clostridium botulinum* y otros formadores de esporas, reduciendo la resistencia térmica de los microorganismos (Tola y Ramaswamy, 2018).

Por otro lado, se identificó que la bebida de mora azul enriquecida presentó una ligera disminución en el valor de grados Brix, en comparación con resto de las bebidas enriquecidas. La medición de grados Brix es una determinación del contenido de sacarosa en agua, por lo que 1 °Brix equivale a 1 g de sacarosa en 100 g de solución.

Cuadro 17. Características físicas y químicas de bebidas control y enriquecidas con compuestos polifenólicos simples y poliméricos

Parámetro	Bebidas control			Bebidas enriquecidas		
	Fresa	Mora azul	Fresa-Mora azul	Fresa	Mora azul	Fresa-Mora azul
pH	3.31 ± 0.05 ^c	3.31 ± 0.02 ^c	3.23 ± 0.09 ^c	3.53 ± 0.01 ^b	3.81 ± 0.01 ^a	3.63 ± 0.02 ^b
% Acidez titulable ¹	0.21 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.01 ^d	0.19 ± 0.01 ^b	0.22 ± 0.00 ^a	0.15 ± 0.00 ^c	0.18 ± 0.00 ^b
Grados Brix	3.47 ± 0.11 ^d	4.12 ± 0.05 ^a	3.64 ± 0.03 ^c	3.53 ± 0.01 ^{cd}	3.81 ± 0.01 ^b	3.63 ± 0.02 ^c
Color	L*	64.03 ± 0.31 ^b	54.57 ± 1.58 ^c	57.29 ± 1.65 ^c	68.00 ± 0.92 ^a	38.31 ± 1.01 ^e
	a*	35.28 ± 2.95 ^a	23.41 ± 2.65 ^b	29.08 ± 1.64 ^b	12.88 ± 0.45 ^c	36.01 ± 2.58 ^a
	b*	27.61 ± 0.81 ^a	15.56 ± 0.15 ^d	18.23 ± 0.65 ^c	20.64 ± 0.21 ^b	9.64 ± 0.21 ^f
						

Los valores representan la media ± desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia significativa (p exacta) con la prueba de Tukey. L*=luminosidad; L*=0 color negro, L*=100 color blanco; a*= negativo verde, positivo rojo; b*= negativo azul; positivo amarillo. ¹g de ácido cítrico/100 mL.

En este caso, la bebida enriquecida de mora azul tiene 3.81 °Brix, que equivalen a 3.81 g de sacarosa en 100 g de solución. De acuerdo con la NOM-086-SSA1-1994 de alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición, los productos reducidos en azúcar son aquellos cuyo contenido de azúcar se ha reducido por lo menos en un 25% del contenido del alimento original o de su similar. Se ha reportado que los jugos de mora azul presentan al menos 12 °Brix (Durmishi et al., 2017), lo que equivale a 12 g de sacarosa en 100 g de solución. Por lo tanto, el contenido de azúcar en estas bebidas se redujo en un 68.25% comparado con el jugo.

En el caso de jugo de fresa con al menos 7.5 °Brix (Aaby et al., 2018), equivalentes a 7.5 g de sacarosa, se obtiene una disminución del 53% en la bebida enriquecida de fresa con 3.53 °Brix. Es por ello por lo que estas bebidas enriquecidas pueden incluirse dentro de la categoría de productos reducidos en azúcar, recordando además que la preparación de estas bebidas emplea sucralosa y acesulfame como edulcorantes no calóricos. Por lo tanto, estas bebidas reducidas en azúcar son un suplemento posible para su uso en el control de la obesidad.

Finalmente, en los parámetros medidos de color, se logra observar una disminución de la luminosidad (L^*) en las bebidas enriquecidas de mora azul y fresa-mora azul, además de un valor más positivo en el parámetro a^* que tiende a coloración roja en la bebida enriquecida de mora azul. Esto puede relacionarse a que el extracto de mora azul recupera una mayor cantidad de antocianinas que, al ser agregadas a la bebida, aportan estas coloraciones. Por otro lado, la bebida enriquecida de fresa aumentó su luminosidad y la tendencia al color amarillo, obteniendo un valor más positivo en el parámetro b^* .

Las características físicas y químicas de las bebidas enriquecidas no fueron diferentes con respecto a las características de las bebidas control; por lo que, el aumento de los colores rojos y los grados Brix, así como la reducción de la acidez, pueden influir en una mayor aceptación de dichas bebidas.

6.8.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles

Las bebidas a base de frutas han incrementado en el mercado, ya que representan una forma fácil y conveniente de consumo de frutas las cuales son fuentes importantes de compuestos que promueven la salud como los polifenólicos simples y poliméricos; los cuales han demostrado diferentes efectos como la disminución del perfil lipídico en sangre, del estrés oxidativo, prevención de la aterosclerosis en la disminución del colesterol LDL y aumento del HDL, entre otros (Tolun y Altintas, 2019).

Las cuantificaciones correspondientes de los compuestos fenólicos simples y poliméricos extraíbles se presentan en el Cuadro 18. De manera general, la adición de los extractos a las bebidas control incrementa la concentración de los fenoles totales en un 23% para la bebida de fresa, 13% para la bebida de mora azul y un 22% para la bebida de fresa-mora azul.

En el caso de los flavonoides totales, solo la bebida de mora azul enriquecida aumentó 18% la concentración de dichos compuestos, mientras que el enriquecimiento de las bebidas restantes no fue estadísticamente diferente con las bebidas control. Esto se relaciona con el aumento dos veces mayor del contenido de antocianinas totales, en la bebida de mora azul, ya que las antocianinas son parte de la cuantificación de los flavonoides totales.

Cuadro 18. Contenido de compuestos fenólicos simples y poliméricos extraíbles de bebidas control y enriquecidas de fresa y mora azul

Bebida		Polifenoles extraíbles simples			Polifenoles extraíbles poliméricos
		Fenoles totales (mg eq AG/mL)	Flavonoides totales (mg eq rutina/mL)	Antocianinas totales (mg eq C3G/mL)	Proantocianidinas (mg eq catequina/mL)
Control	Fresa	0.84 ± 0.03 ^c	0.06 ± 0.005 ^d	0.02 ± 0.001 ^c	1.98 ± 0.19 ^d
Enriquecida	Fresa	1.09 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.003 ^d	0.02 ± 0.002 ^c	2.61 ± 0.20 ^c
Control	Mora azul	0.81 ± 0.03 ^c	0.09 ± 0.005 ^b	0.04 ± 0.002 ^b	2.80 ± 0.13 ^{bc}
Enriquecida	Mora azul	0.93 ± 0.03 ^b	0.11 ± 0.009 ^a	0.08 ± 0.003 ^a	3.36 ± 0.07 ^a
Control	Fresa-Mora azul	0.73 ± 0.04 ^d	0.07 ± 0.002 ^{cd}	0.04 ± 0.001 ^b	2.87 ± 0.10 ^{bc}
Enriquecida	Fresa-Mora azul	0.94 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.002 ^{bc}	0.05 ± 0.001 ^b	3.03 ± 0.03 ^{ab}

Los valores representan la media ± la desviación estándar (n=3). Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa (*p* exacta) con la prueba de Tukey. AG: ácido gálico; C3G: cianidina-3-glucósido.

Finalmente, se observaron incrementos en la concentración de los polifenoles poliméricos, que incluyen a las proantocianidinas totales, de las bebidas enriquecidas de fresa en un 24%, 16.6% para las bebidas de mora azul y 5.2% para las bebidas de fresa-mora azul.

No obstante, aunque las bebidas de fresa enriquecida lograron un mayor incremento de los polifenoles simples y poliméricos extraíbles, las bebidas enriquecidas de mora azul presentaron una mayor concentración de estos compuestos. Con estos resultados alcanzados, es necesario evaluar el efecto del enriquecimiento con compuestos polifenólicos simples y poliméricos en un modelo de obesidad; y con ello, determinar si una bebida rica en estos compuestos puede lograr mayores efectos que las bebidas que presentan una menor cantidad de estos.

6.9 Evaluación del efecto de las bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles sobre un modelo *in vivo* de obesidad

6.9.1 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en el peso corporal de los animales en estudio

El incremento en el consumo de productos ricos en azúcares y grasa es el inicio de diferentes desórdenes metabólicos como la obesidad. La fructosa generalmente es utilizada para la preparación de diversos alimentos y bebidas carbonatadas. El uso de modelos animales contribuye de forma importante en el estudio de este tipo de desórdenes y, por lo tanto, existen modelos de obesidad inducidos por medio de dietas altas en grasa y fructosa, que simulan la dieta más común en personas con estos padecimientos (Lozano et al., 2016).

En la Figura 11 se muestra el registro de peso corporal en las 18 semanas de tratamiento. Este gráfico presenta el grupo control sano, alimentado con una dieta estándar (DE); el grupo control obeso, alimentado con una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF); así como los 3 grupos correspondientes a las 3 bebidas control,

alimentados con una DAGF y finalmente 3 grupos con las 3 bebidas enriquecidas correspondientes, que también se alimentaron con DAGF.

Para este parámetro se identificó que, a partir de la semana 6, el peso corporal de los grupos alimentados con la DAGF fue estadísticamente diferentes al valor del grupo control sano, logrando una mayor ganancia de peso. La ganancia de peso se relaciona con el aumento de tamaño y número de adipocitos, generada por el mayor almacenamiento de triglicéridos en tejido adiposo (Morales-Luna et al., 2018). Durante el tiempo de estudio no se observaron diferencias significativas en el peso corporal de los grupos de animales que consumieron bebidas control y bebidas enriquecidas con respecto al peso del grupo control obeso que no recibió tratamiento.

Los efectos observados en este experimento fueron similares a otros donde también se dieron bebidas elaboradas a partir de estos frutos rojos. Por ejemplo, Park y colaboradores (2016) realizaron un estudio con 21 adultos con obesidad abdominal y resistencia a la insulina, quienes consumieron una comida rica en grasa y carbohidratos acompañada de una de las 4 bebidas de fresa liofilizada resuspendida en agua (0, 10, 20 o 40 g fresa liofilizada). Al final del tratamiento, no se observó una diferencia importante en el peso corporal de los participantes, con respecto al peso corporal inicial; solamente se observó una disminución de la concentración de colesterol LDL en sangre.

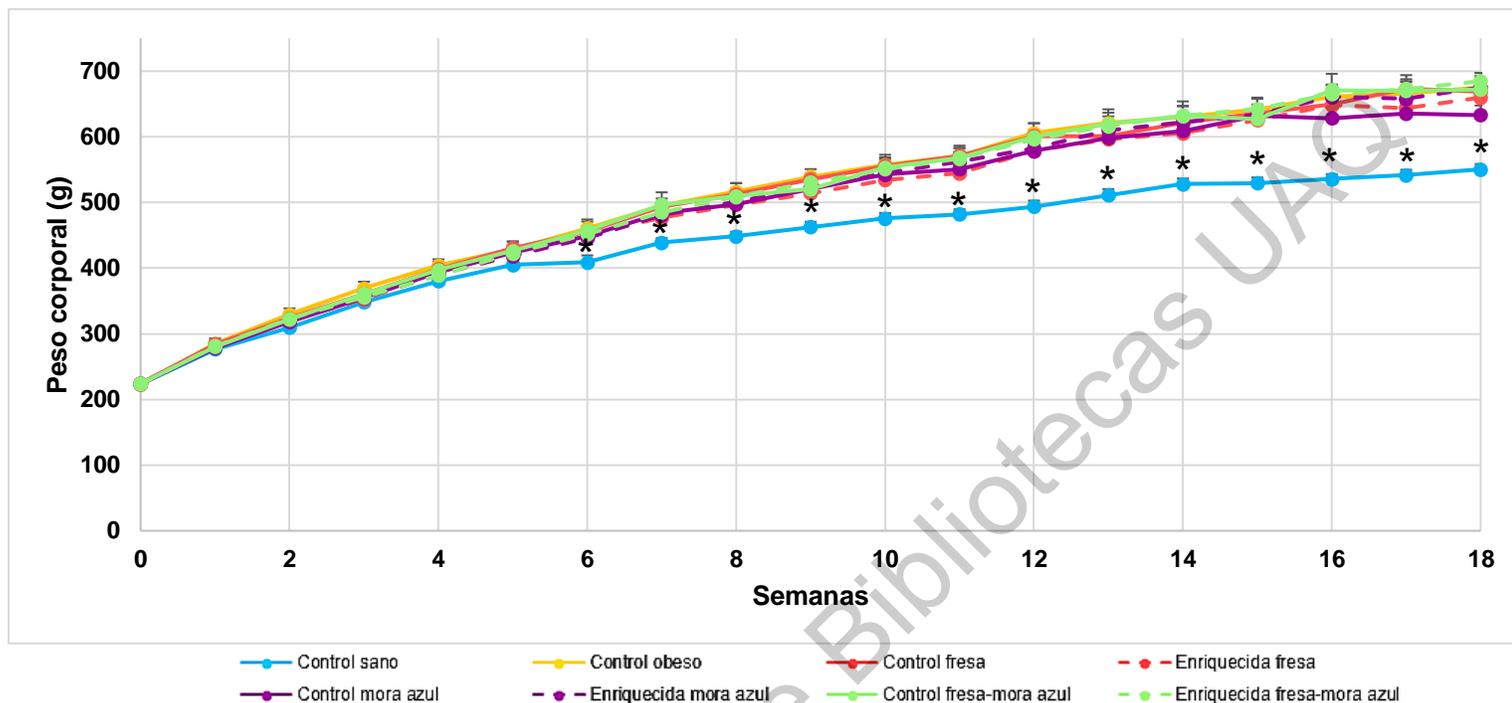


Figura 11. Monitoreo de peso corporal de animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles

Los valores representan la media \pm error estándar ($n=10$) considerando una jaula con 2 ratas como unidad experimental. Acotaciones marcadas con * indican diferencia estadística significativa (p exacta) respecto al grupo obeso utilizando la prueba de Dunnet o U de Mann-Whitney.

Mientras que Riso y colaboradores (2013) administraron una bebida de mora azul que contenía 25 g de este fruto liofilizado resuspendido en agua a un grupo de hombres con factores de riesgo cardiovascular (IMC 24.8 kg/cm²) durante 6 semanas, mientras que un grupo control consumió una bebida placebo. Después de este tratamiento no se encontraron diferencias en el peso corporal con respecto al peso corporal inicial, en los grupos que consumieron la bebida con mora azul liofilizada y la bebida placebo.

6.9.2 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en el consumo de alimento

Para evaluar si las bebidas de fresa, mora azul y fresa-mora azul producen un efecto sobre la saciedad en los animales, se realizó un monitoreo del consumo de alimento durante el transcurso del tratamiento. En la Figura 12 se pueden identificar los valores promedios del consumo de alimento por jaula que cada uno de los grupos animales tuvo durante las 18 semanas de tratamiento. El grupo control sano fue el que consumió una cantidad mayor de alimento con respecto a la de los otros grupos con DAGF control y con tratamientos. Aunque se ha reportado que algunos compuestos polifenólicos pueden lograr saciedad cuando se consumen en ciertos alimentos, en este caso se observa que las bebidas control y enriquecidas de estos frutos rojos no lograron tal efecto.

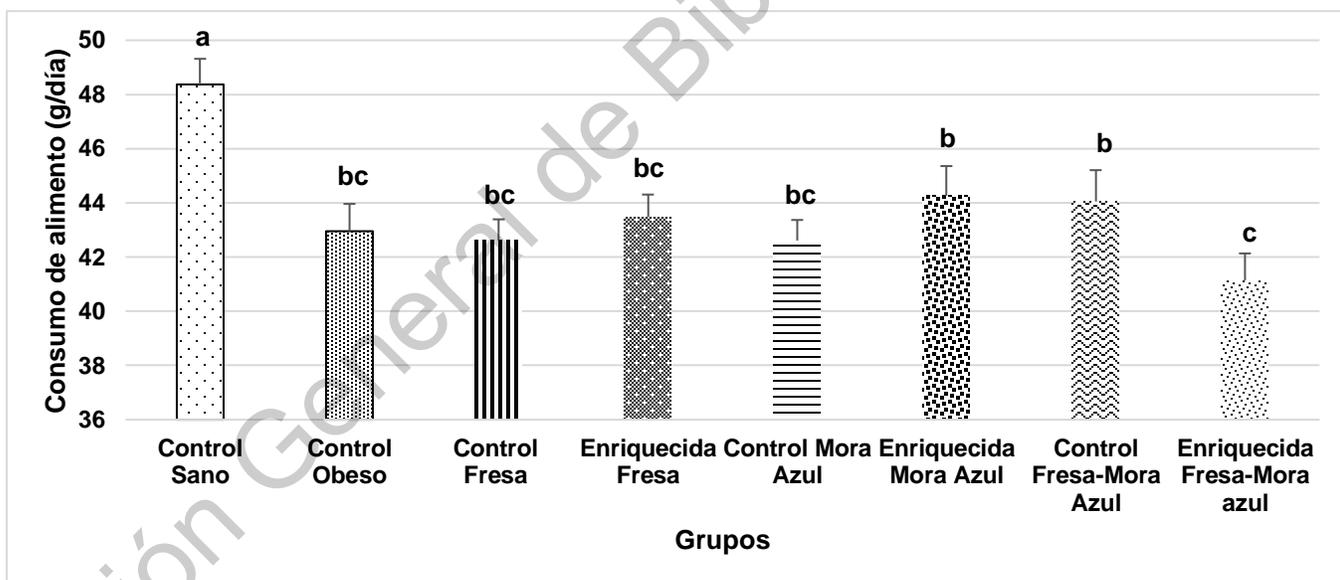


Figura 12. Consumo promedio de alimento de animales sanos y obesos durante el tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles

Los valores representan la media \pm error estándar ($n=10$), considerando una jaula con dos ratas como unidad experimental. Valores marcados con diferente letra en cada barra indican diferencia estadística significativa (p exacta) utilizando la prueba de comparación de medias de Tukey.

Se ha reportado que la fructosa no promueve saciedad y por lo tanto, aumenta la ingesta calórica; sin embargo, en este experimento se observó lo contrario. Estos resultados fueron similares en un experimento con ratas alimentadas con una DAGF que redujeron su ingesta de alimentos (Moreno-Fernández et al., 2018). Esto está relacionado a que la DAGF aporta una mayor cantidad de calorías y por lo tanto, genera una mayor saciedad en los animales que la consumen, a comparación de la DE.

6.9.3 Efecto en el volumen de bebida consumida por los animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas control y enriquecidas

Por otro lado, se monitoreó el consumo de bebidas controles y bebidas enriquecidas de cada uno de los sabores que fue administrado a los grupos obesos con tratamiento. Además, se registró el consumo de agua por parte de los grupos control sano y obeso. El volumen de bebidas controles y enriquecidas, así como el agua potable consumidos en promedio durante las 18 semanas de tratamiento, se muestra en la Figura 13 y se observa que todos los grupos alimentados con DAGF y bebidas consumieron un volumen similar de bebidas a pesar de los sabores producidos por los extractos de los residuos de la decocción. De acuerdo a la concentración de fenoles totales de cada una de las bebidas, las dosis administradas para cada una de las ratas fue de 0.17 mg eq AG/kg para bebida de fresa control, 0.23 mg eq AG/kg de bebida de fresa enriquecida, 0.17 mg eq AG/kg de bebida de mora azul control, 0.19 mg eq AG/kg de bebida de mora azul enriquecida, 0.15 mg eq AG/kg de bebida fresa-mora azul control y 0.19 mg eq AG/kg de bebida de fresa-mora azul enriquecida. Si estas dosis se escalan en humanos corresponderían a 0.037 mg eq AG/kg, 0.027 mg eq AG/kg, 0.032 mg eq AG/kg, 0.025 mg eq AG/kg y 0.03 mg eq AG/kg respectivamente.

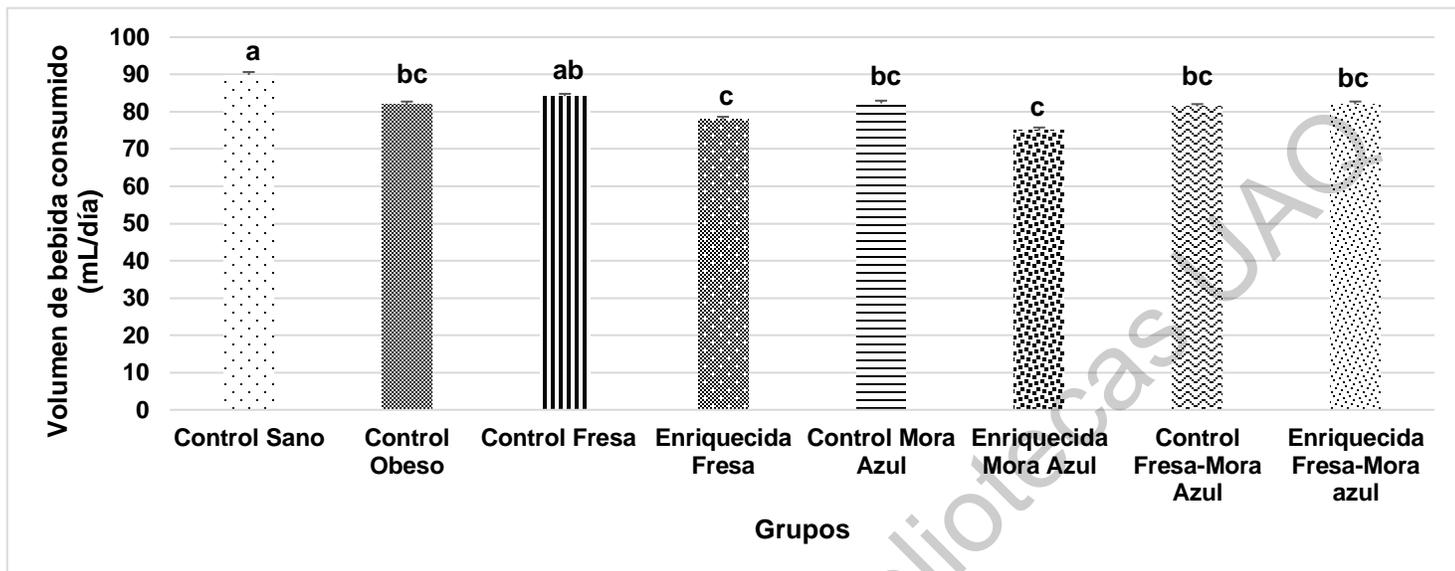


Figura 13. Volumen promedio de consumo de bebida de animales sanos y obesos durante el tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles

Los valores representan la media \pm error estándar ($n=10$), considerando una jaula con 2 ratas como unidad experimental. Valores marcados con diferente letra en cada barra indican diferencia estadística significativa (p exacta) utilizando la prueba de comparación de medias de Tukey.

Para una persona de 60 kg de peso corporal, el consumo de esta bebida es equivalente a 10.93 mg eq AG para lograr los efectos alcanzados en este experimento. Los diferentes estudios de compuestos polifenólicos presentes en los alimentos han reportado que la dosis diaria de estos compuestos varía de entre 1000-15000 mg/día, los cuales pueden provenir principalmente de frutos, vegetales y bebidas (Austermann et al., 2019) y además, algunos efectos benéficos como la reducción de peso corporal se han logrado en estas dosis (Bruno et al., 2017). Por lo tanto, de acuerdo con el contenido de fenoles totales que presentan estas bebidas desarrolladas, la cantidad de estos compuestos no es suficiente para completar dicha dosis diaria. No obstante, si una persona consume 500 mL de estas bebidas todos los días, consumiría en promedio 445 mg de fenoles totales, por lo que este tipo de bebidas complementan casi la mitad de la dosis diaria, lo que compensa la concentración de los compuestos polifenólicos que provienen del resto de la dieta.

6.9.4 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en los parámetros físicos

El registro de mediciones antropométricas permitió evaluar el progreso de obesidad en los animales control y con tratamiento de las bebidas desarrolladas. En el Cuadro 19 se muestran las mediciones antropométricas obtenidas en las semanas 2, 10 y 18, que representan un punto inicial, intermedio y final del experimento. En términos generales, las mediciones correspondientes a la circunferencia abdominal de los grupos tratados con las bebidas control y enriquecidas no presentaron ninguna diferencia significativa con respecto al grupo control obeso. No obstante, en la circunferencia torácica en la última semana de tratamiento se observó una ligera disminución en el grupo tratado con la bebida de fresa-mora control, pero no fue estadísticamente diferente con respecto al obeso. Por lo tanto, las bebidas control y enriquecidas no presentaron una disminución importante de estos parámetros.

Cuadro 19. Monitoreo de parámetros físicos de las semanas 2, 10 y 18 de animales sanos y obesos con tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos y extraíbles

Grupos	Parámetros físicos					
	Circunferencia abdominal (cm)	Circunferencia torácica (cm)	IMC (g/cm ²)	Índice de Lee	Tasa de ganancia de peso (g/kg)	Ingesta de energía (kJ/semana)
Semana 2						
CS	15.70 ± 0.20 ^{ac}	15.10 ± 0.19 ^{ab}	0.49 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.002 ^a	0.12 ± 0.02 ^a	1157.18 ± 15.74 ^a
CO	17.00 ± 0.50 ^{ab}	15.46 ± 0.29 ^a	0.51 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.003 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	1200.33 ± 68.31 ^a
FC	15.90 ± 0.19 ^{ab}	13.94 ± 0.18 ^{bc}	0.50 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.004 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	1172.95 ± 37.91 ^a
FE	15.78 ± 0.44 ^{abc}	14.56 ± 0.27 ^{abc}	0.49 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.002 ^a	0.13 ± 0.01 ^a	1172.38 ± 28.48 ^a
MC	15.10 ± 0.19 ^c	13.56 ± 0.38 ^c	0.49 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.003 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	1081.67 ± 65.98 ^a
ME	15.98 ± 0.18 ^a	15.38 ± 0.20 ^a	0.48 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.004 ^a	0.14 ± 0.02 ^a	1131.87 ± 64.38 ^a
FMC	15.66 ± 0.25 ^{bc}	14.70 ± 0.46 ^{abc}	0.48 ± 0.01 ^a	0.26 ± 0.002 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	1154.69 ± 62.74 ^a
FME	16.5 ± 0.32 ^a	15.62 ± 0.16 ^a	0.50 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.002 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	1163.82 ± 40.82 ^a
Semana 10						
CS	16.75 ± 0.18 ^b	16.60 ± 0.17 ^d	0.71 ± 0.01 ^a	0.30 ± 0.001 ^a	0.03 ± 0.001 ^a	848.21 ± 22.74 ^a
CO	19.05 ± 0.25 ^a	17.70 ± 0.17 ^a	0.78 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.002 ^a	0.03 ± 0.002 ^a	874.01 ± 13.31 ^a
FC	18.75 ± 0.29 ^a	17.30 ± 0.24 ^{ac}	0.77 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.003 ^a	0.04 ± 0.003 ^a	937.90 ± 26.12 ^a
FE	18.25 ± 0.30 ^a	17.35 ± 0.26 ^{bc}	0.75 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.004 ^a	0.05 ± 0.032 ^a	1076.53 ± 64.47 ^a
MC	18.55 ± 0.29 ^a	17.20 ± 0.09 ^{ac}	0.76 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.002 ^a	0.04 ± 0.005 ^a	889.98 ± 36.97 ^a
ME	18.75 ± 0.21 ^a	17.35 ± 0.10 ^{ac}	0.77 ± 0.01 ^a	0.31 ± 0.001 ^a	0.04 ± 0.006 ^a	963.00 ± 77.60 ^a
FMC	18.70 ± 0.25 ^a	17.25 ± 0.22 ^{bc}	0.77 ± 0.01 ^a	0.31 ± 0.002 ^a	0.04 ± 0.007 ^a	944.75 ± 23.77 ^a
FME	18.63 ± 0.21 ^a	17.45 ± 0.15 ^{abc}	0.78 ± 0.02 ^a	0.31 ± 0.003 ^a	0.04 ± 0.001 ^a	901.39 ± 20.09 ^a
Semana 18						
CS	19.00 ± 0.25 ^b	18.30 ± 0.18 ^{cd}	0.76 ± 0.02 ^b	0.30 ± 0.003 ^b	0.02 ± 0.003 ^a	928.90 ± 45.90 ^a
CO	20.50 ± 0.44 ^{ab}	19.05 ± 0.23 ^{cd}	0.92 ± 0.02 ^a	0.32 ± 0.003 ^{ab}	0.01 ± 0.002 ^a	981.26 ± 46.21 ^a
FC	22.40 ± 0.64 ^a	20.25 ± 0.39 ^a	0.90 ± 0.05 ^a	0.32 ± 0.008 ^{ab}	0.03 ± 0.008 ^a	940.18 ± 51.74 ^a
FE	20.34 ± 0.39 ^{ab}	19.31 ± 0.60 ^{ab}	0.87 ± 0.02 ^{ab}	0.32 ± 0.003 ^{ab}	0.03 ± 0.036 ^a	889.98 ± 39.53 ^a
MC	20.95 ± 0.35 ^{ab}	19.70 ± 0.41 ^{ab}	0.90 ± 0.02 ^a	0.32 ± 0.002 ^{ab}	0.02 ± 0.006 ^a	880.85 ± 33.54 ^a
ME	21.45 ± 0.41 ^a	19.75 ± 0.21 ^a	0.95 ± 0.02 ^a	0.33 ± 0.003 ^a	0.03 ± 0.004 ^a	917.36 ± 60.55 ^a
FMC	21.40 ± 0.68 ^a	18.10 ± 0.19 ^d	0.95 ± 0.03 ^a	0.33 ± 0.004 ^a	0.01 ± 0.004 ^a	944.75 ± 57.10 ^a
FME	21.75 ± 0.25 ^a	19.60 ± 0.29 ^{ab}	0.93 ± 0.03 ^a	0.33 ± 0.005 ^a	0.02 ± 0.005 ^a	894.54 ± 26.42 ^a

Valores representan la media ± error estándar (n=10) considerando una jaula con 2 ratas como unidad experimental. Valores con diferente letra en la misma columna y en cada semana indican diferencia significativa (*p* exacta) con la prueba de Tukey o U de Mann-Whitney. IMC: índice de masa corporal; CS: control sano; CO: control obeso; FC: fresa control; FE: fresa enriquecida; MC: mora azul control; ME: mora azul enriquecida; FMC: fresa-mora azul control; FME: fresa-mora azul enriquecida.

En los diferentes estudios aplicados en la suplementación tanto de frutos rojos enteros, sus extractos y algunas bebidas en la dieta de animales como de humanos, no se han observado cambios en las mediciones antropométricas realizadas después de los tratamientos, con respecto a las mediciones basales (Miller et al., 2019).

Con respecto al IMC calculado a partir del peso corporal y longitud de los animales, se identificó que hasta la última semana de tratamiento, el grupo suplementado con la bebida de fresa enriquecida presentó, una disminución de este parámetro, siendo incluso semejante al grupo control sano. Esto podría relacionarse a que en frutos de fresa, además de las proantocianidinas como compuestos poliméricos, también se encuentran los taninos hidrolizables en forma de elagitaninos, cuyos metabolitos generados por su interacción con la microbiota pueden llegar a ejercer diferentes efectos benéficos a la salud (Corrêa et al., 2019). No obstante, aún no existen suficientes estudios relacionados al efecto obesogénico de los elagitaninos provenientes de los frutos de fresa.

Por otro lado, el índice de Lee es un parámetro que permite corregir el peso corporal para las diferencias individuales en la longitud corporal. Esto es especialmente importante, ya que el crecimiento óseo nunca se detiene por completo en las ratas; y puede ser modificado si existen manipulaciones en la dieta de los animales en estudio, que podrían detener el crecimiento óseo (Simson y Gold, 1982). Cuando el índice de Lee es ≤ 0.30 los animales son de complexión normal y se consideran sanos, mientras que si este valor es superior los animales son clasificados como obesos. Durante la semana 2 y 10 del tratamiento, no se observaron diferencias entre todos los grupos con tratamiento y los grupos control sano y obeso. No obstante, en la semana 18 el índice de Lee del grupo sano permaneció en 0.30; mientras que, los grupos con tratamiento de bebidas control y enriquecidas, así como el control obeso, tuvieron valores de 0.32 y 0.33, clasificándose como animales obesos de acuerdo con este índice. Este trabajo de investigación es el primero en considerar este parámetro antropométrico en animales suplementados con este tipo de bebidas de frutos rojos.

6.9.5 Efecto del consumo de bebidas control y enriquecidas en la concentración de triglicéridos en sangre

En la Figura 14 se muestran los resultados de la concentración de triglicéridos en sangre de los animales controles y con tratamiento de bebidas control y enriquecidas.

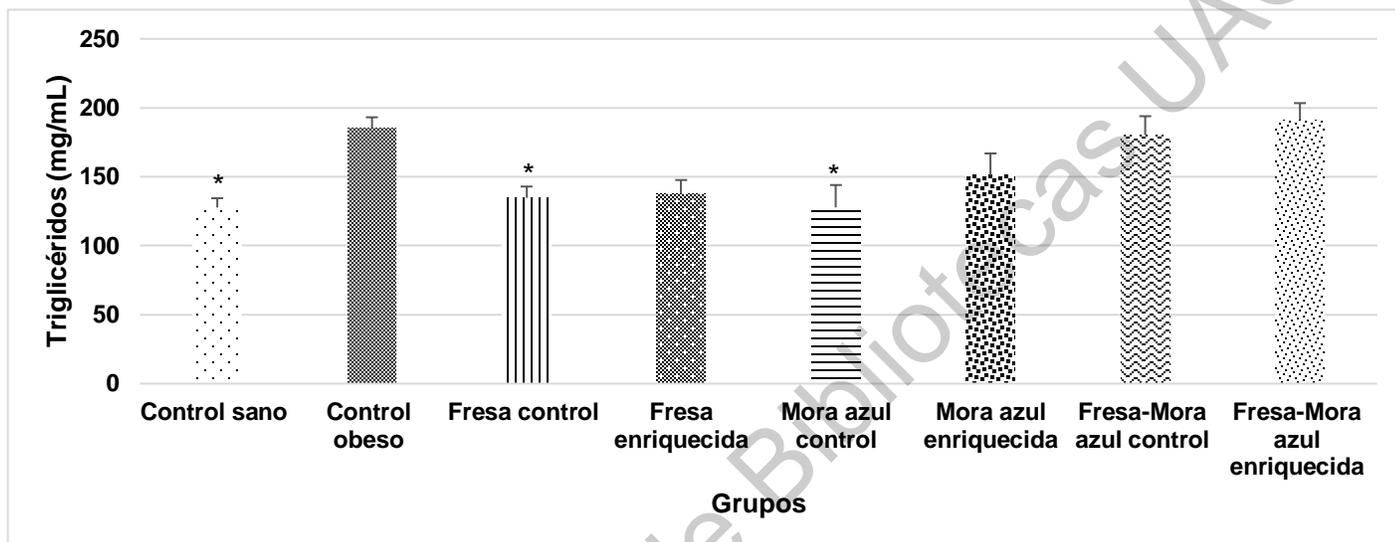


Figura 14. Triglicéridos en sangre de animales sanos y obesos al final del el tratamiento de bebidas enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles

Los valores representan la media \pm error estándar ($n=10$) considerando una jaula con 2 ratas como unidad experimental. Acotaciones marcadas con * indican diferencia estadística significativa (p exacta) respecto al grupo obeso utilizando la prueba de Dunnet.

Los animales que fueron suplementados con la bebida de fresa control disminuyeron un 27.4 % la concentración de triglicéridos en sangre; mientras que, los animales suplementados con la bebida de mora azul control, disminuyeron un 31.14 % dicha concentración, siendo estos animales diferentes significativamente al grupo control obeso. Además, se identificó que ninguna de las bebidas enriquecidas logró un efecto hipolipidémico en los animales obesogénicos. Esto puede relacionarse a que en las bebidas control tanto de fresa como de mora azul predominan la concentración de polifenoles simples, en comparación con las bebidas enriquecidas donde los polifenoles poliméricos son los mayoritarios.

Los efectos reportados de los frutos rojos en la disminución del perfil lipídico se han asociado principalmente a las antocianinas, como parte de los polifenoles simples

que se encuentran de forma mayoritaria en fresa y mora azul. En un estudio realizado en células de carcinoma hepatocelular humano (HepG2), se evaluó el efecto de dos extractos diferentes de fresa, uno de ellos con metanol y el otro con una fracción enriquecida de antocianina, sobre el perfil lipídico. En el experimento se observó una disminución en el contenido de triglicéridos, principalmente en los extractos ricos en la fracción de antocianinas (Forbes-Hernández et al., 2017). No obstante, existen pocos estudios que evalúen el efecto de las antocianinas aisladas de las fresas.

Para el caso de la mora azul, estudios clínicos demuestran que el fruto suplementado en la dieta diaria (50 g fruto fresco) durante 6 semanas puede disminuir la concentración de triglicéridos (Istek y Gurbuz, 2017) en pacientes con obesidad y sobrepeso.

Para las bebidas de fresa y mora azul enriquecidas no se observaron efectos sobre la disminución en la concentración de triglicéridos, a pesar de que esta bebida presenta mayores contenidos de polifenoles simples y poliméricos. Por lo tanto, esta cuantificación necesita ser confirmada con kits enzimáticos.

7. CONCLUSIONES

1. Las decocciones elaboradas a partir de los frutos rojos de fresa y mora azul presentaron un mayor contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles, así como una mayor aceptabilidad sensorial comparadas con las decocciones de frutos cítricos de naranja, mandarina y toronja cuyos sabores predominantes fueron amargos y ácidos, que se puede relacionar a su contenido de flavonoides como la naringina, la neohesperidina y la limonina.
2. Los compuestos polifenólicos de los residuos de fresa y mora azul presentan un comportamiento de extracción similar con respecto al tiempo y la temperatura, mientras que para el caso de las antocianinas de mora azul ambos factores afectan su extracción. Por lo que las características estructurales de las antocianinas de residuo de cada fruta podrían afectar su extracción.
3. Las propiedades físicas y químicas de las bebidas enriquecidas fueron modificadas, principalmente en las de mora azul ya que el residuo aporta pocos azúcares, reduciendo los grados Brix de esta, así como una mayor cantidad de antocianinas, que logra cambios en la coloración final de la bebida que modifica la coloración final de la bebida.
4. El enriquecimiento de bebidas de frutos rojos con compuestos polifenólicos simples y poliméricos no mejora el control de peso corporal en animales alimentados con una dieta hipercalórica. Por el contrario a lo esperado, las bebidas control de fresa y mora azul disminuyeron el contenido de triglicéridos en sangre de los animales tratados. No obstante, las bebidas enriquecidas no tuvieron este efecto a pesar de su mayor contenido de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles.
5. El enriquecimiento de compuestos polifenólicos simples y poliméricos extraíbles en bebidas de fresa y mora azul no es efectivo para el control del peso corporal y de triglicéridos sanguíneos.

8. REFERENCIAS

Aaby K., Grimsbo I. H., Hovda M. B., Rode T. M. 2018. Effect of high pressure and thermal processing on shelf life and quality of strawberry purée and juice. *Food Chem.* 260, 115-123.

Adebooye O. C., Alashi A. M., Aluko R. E. 2018. A brief review on emerging trends in global polyphenol research. *J. Food Biochem.* 42(4), e12519.

Ademosun A. O., Oboh G. 2014. Anticholinesterase and antioxidative properties of water-extractable phytochemicals from some citrus peels. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 25(2), 199-204.

Aguilar T., De Bruijn J., Loyola C., Bustamante L., Vergara C., Von Baer D., Mardones C., Serra, I. 2018. Characterization of an antioxidant-enriched beverage from grape musts and extracts of winery and grapevine by-products. *Beverages*, 4(1), 4.

Alvarez-Suarez J. M., Giampieri F., Tulipani S., Casoli T., Di Stefano G., González-Paramás A. M., Santos-Buelga C., Busco F., Quiles J.L., Cordero M.D., Bompadre, S. 2014. One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. *J. Nutr. Biochem.* 25(3), 289-294.

Antolak H., Kregiel D. 2017. Food Preservatives from Plants. En: Karunaratne D.N. y Pamunuwa G. (Eds.), *Food Additives*. Croacia. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.70090

AOAC Official Method 932.12 Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products. Fecha de consulta: 29/06/2020 Disponible en: <https://es.scribd.com/document/190612742/AOAC-Official-Method-932-12-Solids-Soluble-in-Fruits-and-Fruit-Products>

AOAC Official Method 942.15. Acidity (Titrable) of Fruit Products. Fecha de consulta: 29/06/2020 Disponible en: <https://www.coursehero.com/file/31995804/AOAC942-15pdf/>

Arranz S., Silván J. M., Saura-Calixto F. 2010. Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: a study on the Spanish diet. *Mol. Nutr. Food Res.* 54(11), 1646-1658.

Austermann K., Baecker N., Stehle P., Heer M. 2019. Putative Effects of Nutritive Polyphenols on Bone Metabolism In Vivo—Evidence from Human Studies. *Nutrients*, 11(4), 871.

Ballistreri G., Fabroni S., Romeo F. V., Timpanaro N., Amenta M., Rapisarda P. 2019. Anthocyanins and other polyphenols in citrus genus: biosynthesis, chemical profile, and biological activity. En: Watson R.R. (Ed.) *Polyphenols in Plants*. Academic Press. 191-215.

Basu A., Du M., Leyva M. J., Sanchez K., Betts N. M., Wu M., Aston C. E., Lyons, T. J. 2010. Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. *J. Nutr.* 140(9), 1582-1587.

Basu A., Betts N. M., Nguyen A., Newman E. D., Fu D., Lyons, T. J. 2014. Freeze-dried strawberries lower serum cholesterol and lipid peroxidation in adults with abdominal adiposity and elevated serum lipids. *J. Nutr.* 144(6), 830-837.

Benvenuti L., Bortolini D. G., Nogueira A., Zielinski A. A. F., Alberti A. 2019. Effect of addition of phenolic compounds recovered from apple pomace on cider quality. *LWT*, 100, 348-354.

Bruno A., Pandolfo G., Crucitti M., Cedro C., Zoccali R. A., Muscatello M. R. A. 2017. Bergamot polyphenolic fraction supplementation improves cognitive functioning in schizophrenia: data from an 8-week, open-label pilot study. *J. Clin. Psychopharmacol.* 37(4), 468-471.

Buvé C., Kebede B. T., De Batselier C., Carrillo C., Pham H. T., Hendrickx M., Grauwet T., Van Loey, A. 2018. Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage. *J. Food Eng.* 216, 42-51.

Carocho M., Barros L., Calheta R. C., Ćirić A., Soković M., Santos-Buelga C., Morales P., Ferreira I. C. 2015. *Melissa officinalis* L. decoctions as functional beverages: a bioactive approach and chemical characterization. *Food Funct.* 6(7), 2240-2248.

Castañón-Rodríguez J. F., Uresti-Marín R. M., Soto-Gómez M. G., Santiago-Adame R., Ortiz-Basurto R. I. 2020. Evaluation of spray-drying's operable condition for obtaining orange juice powder: effects on physicochemical properties. *CYTA J. Food.* 18(1), 195-202.

Cheng N., Barbano D. M., Drake M. A. 2019. Effect of pasteurization and fat, protein, casein to serum protein ratio, and milk temperature on milk beverage color and viscosity. *J. Dairy Sci.* 102(3), 2022-2043.

Cheng C. X., Jia M., Gui Y., Ma Y. 2020. Comparison of the effects of novel processing technologies and conventional thermal pasteurisation on the nutritional quality and aroma of Mandarin (*Citrus unshiu*) juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 102425.

Corrêa T. A. F., Rogero M. M., Hassimotto N. M. A., Lajolo F. M. 2019. The Two-Way Polyphenols-Microbiota Interactions and Their Effects on Obesity and Related Metabolic Diseases. *Front. Nutr.*, 6.

Cuong D. X., Hoan N. X., Dong D. H., Van Thanh N., Ha H. T., Tuyen D. T. T., Chinh, D. X. 2019. Tannins: Extraction from Plants. En: *Tannins-Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86040>

de Aguiar L. A., Rodrigues D. B., Queiroz V. A. V., Melo L., de Oliveira Pineli L. D. L. 2020. Comparison of two rapid descriptive sensory techniques for profiling and screening of drivers of liking of sorghum breads. *Food Res. Int.* 131, 108999.

Ding X., Guo L., Zhang Y., Fan S., Gu M., Lu Y., Jiang D., Li Y., Huang C., Zhou, Z. 2013. Extracts of pomelo peels prevent high-fat diet-induced metabolic disorders in C57BL/6 mice through activating the PPAR α and GLUT4 pathway. *PLOS ONE.* 8(10), e77915.

Dow C. A., Going S. B., Chow H. H. S., Patil B. S., Thomson C. A. 2012. The effects of daily consumption of grapefruit on body weight, lipids, and blood pressure in healthy, overweight adults. *Metabolism*. 61(7), 1026-1035.

Durmishi N., Karakasova L., Babanovska-Milenkovska F., Kongoli, R. 2017. Control some quality parameters of the natural juice of blueberry with different fruit content. University of Business and Technology in Kosov. International Conference. 173.
<https://knowledgecenter.ubt-uni.net/conference/2017/all-events/173>.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). 2018. Fecha de consulta: 23/04/2020. Disponible en:
https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf

Escudero-López B., Fernández-Pachón M. S., Herrero-Martín G., Ortega A., Cerrillo I., Martín F., Berná G. 2016. Orange beverage ameliorates high-fat-diet-induced metabolic disorder in mice. *J. Funct. Foods*. 24, 254-263.

Esparza-Martínez F. J., Miranda-López R., Mata-Sánchez S. M., Guzmán-Maldonado S. H. 2016. Extractable and non-extractable phenolics and antioxidant capacity of mandarin waste dried at different temperatures. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71(3), 294-300.

Featherstone S. 2015. Ingredients used in the preparation of canned foods. A complete course in canning and related processes. Microbiology, Packaging, HACCP and Ingredients. Woodhead Publishing. 147-211.

Ferreira S. S., Silva A. M., Nunes F. M. 2018. *Citrus reticulata* Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Ind. Crops Prod.* 111, 141-148.

Forbes-Hernández T. Y., Gasparrini M., Afrin S., Cianciosi D., González-Paramás A. M., Santos-Buelga C., Mezzetti B., Quiles J. L., Batino M., Giampieri F., Bompadre S. 2017. Strawberry (cv. *Romina*) methanolic extract and anthocyanin-enriched fraction improve lipid profile and antioxidant status in HepG2 cells. *Int. J. Mol. Sci.* 18(6), 1149.

Fotakis C., Tsigirani D., Tsiaka T., Lantzouraki D. Z., Strati I. F., Makris C., Tagkouli D., Proestos C., Sinanoglou V.J., Zoumpoulakis P. 2016. Metabolic and antioxidant profiles of herbal infusions and decoctions. *Food Chem.* 211, 963-971.

Fotirić Akšić M., Dabić Zagorac D., Sredojević M., Milivojević J., Gašić U., Meland M., Natić, M. 2019. Chemometric Characterization of Strawberries and Blueberries according to Their Phenolic Profile: Combined Effect of Cultivar and Cultivation System. *Molecules*. 24(23), 4310.

Frölech D., Assis A., Schuch M., Barros M., Nadal M., Oliveira, B. S. 2019. Chemical and sensorial analysis of blueberry nectar and juice. *ASB. Journal*. 5(1), 32-32.

Garlough R. B. 2010. Modern Food Service Purchasing: Business Essentials to Procurement. Cengage Learning. USA. 448.

Giusti M. M., Wrolstad R. E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Página en Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc. doi:10.1002/0471142913.faf0102s00.

Grand View Research, 2019. Polyphenols Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Grape Seed, Green Tea, Cocoa), By Application (Beverages, Food, Feed, Dietary Supplements, Cosmetics), And Segment Forecasts, 2019-2025. ID: 978-1-68038-127-6. Fecha de consulta: 03/07/2020. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/polyphenols-market-analysis>

Han T. S., Lean M. E. 2016. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. JRSM Cardiovasc. Dis. 5, 1-13.

He B., Zhang L. L., Yue X. Y., Liang J., Jiang J., Gao X. L., Yue P. X. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. Food Chem. 204, 70-76.

Hellström J. K., Torronen A. R., Mattila, P. H. 2009. Proanthocyanidins in common food products of plant origin. J. Agric. Food Chem. 57(17), 7899-7906.

Heinonen M. 2007. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics—a Finnish perspective. Mol. Nutr. Food Res. 51(6), 684-691.

Hidalgo G. I., Almajano M. P. 2017. Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: a review. Antioxidants. 6(1), 7.

Howard L. R., Brownmiller C., Mauromoustakos A., Prior R. L. 2016. Improved stability of blueberry juice anthocyanins by acidification and refrigeration. J. Berry Res. 6(2), 189-201.

Istek N., Gurbuz, O. 2017. Investigation of the impact of blueberries on metabolic factors influencing health. J. Funct. Foods. 38, 298-307.

Jaroslawska J., Juszkiewicz J., Wroblewska M., Jurgonski A., Krol B., Zdunczyk Z. 2011. Polyphenol-rich strawberry pomace reduces serum and liver lipids and alters gastrointestinal metabolite formation in fructose-fed rats. J. Nutr. 141(10), 1777-1783.

Jiang Q. X., Ning K. L., Yu D. W., Xu Y. S., Wang B., Yang F., Gao P., Xia W. S. 2020. Effects of blanching on extraction and stability of anthocyanins from blueberry peel. J. Food Meas. Charact., 1-8.

Jiang S. Z., Lu W., Zong X. F., Ruan H. Y., Liu, Y. 2016. Obesity and hypertension. Exp. Ther. Med. 12(4), 2395-2399.

Kammerer D. R., Kammerer J., Valet R., Carle R. 2014. Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. Food Res. Int. 65, 2-12.

Khanal R. C., Howard L. R., Brownmiller C. R., Prior R. L. 2009. Influence of extrusion processing on procyanidin composition and total anthocyanin contents of blueberry pomace. J. Food Sci. 74(2), H52-H58.

Kang S., Song S., Lee J., Chang H., Lee S. 2018. Clinical investigations of the effect of *Citrus unshiu* peel pellet on obesity and lipid profile. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4341961>

Karsheva M., Kirova E., Alexandrova S. 2013. Natural antioxidants from citrus mandarin peels. Extraction of polyphenols; effect of operational conditions on total polyphenols contents and antioxidant activity. J. Chem. Technol. Metall. 48(1), 35-41.

Kazemi M., Karim R., Mirhosseini H., Hamid A. A. 2016. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. Food Chem. 206, 156-166.

Kelanne N., Laaksonen O., Seppälä T., Yang W., Tuukkanen K., Loponen J., Yang B. 2019. Impact of cyclodextrin treatment on composition and sensory properties of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) juice. LWT, 113, 108295.

Kim J. K., Jeong H. W., Kim A. Y., Hong Y. D., Lee J. H., Choi J. K., Hwang J. S. 2018. Green satsuma mandarin orange (*Citrus unshiu*) extract reduces adiposity and induces uncoupling protein expression in skeletal muscle of obese mice. Food Sci. Biotechnol. 28(3), 873-879.

Klavins L., Kviesis J., Nakurte I., Klavins M. 2018. Berry press residues as a valuable source of polyphenolics: Extraction optimisation and analysis. LWT. 93, 583-591.

Kosmala M., Zduńczyk Z., Kołodziejczyk K., Klimczak E., Juśkiewicz J., Zduńczyk P. 2014. Chemical composition of polyphenols extracted from strawberry pomace and their effect on physiological properties of diets supplemented with different types of dietary fibre in rats. Eur. J. Nutr. 53(2), 521-532.

Lapornik B., Prošek M., Wondra A. G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. J. Food Eng. 71(2), 214-222.

Lawless H.T., Heymann H. 2010. Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices. Springer-Verlag New York.

Lee C. A., Vickers Z. M. 2010. Discrimination among astringent samples is affected by choice of palate cleanser. Food Qual Prefer., 21(1), 93-99.

Li B. B., Smith B., Hossain M. M. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. Sep. Purif. Technol. 48(2), 182-188.

Lozano I., Van der Werf R., Bietiger W., Seyfritz E., Peronet C., Pinget M., Jeandidier N., Maillard E., Marchioni E., Sigrist S., Dal, S. 2016. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. Nutr. Metab. 13(1), 15.

Luís Â., Sousa S., Duarte A. P., Pereira L., Domingues F. 2018. Phytochemical characterization, and evaluation of rheological and antioxidant properties of commercially available juices of berries. J. Berry Res. 8(1), 11-23.

Malik V. S. 2017. Sugar sweetened beverages and cardiometabolic health. *Curr. Opin. Cardiol.* 32(5), 572-579.

Mandave P., Khadke S., Karandikar M., Pandit V., Ranjekar P., Kuvalekar A., Mantri, N. 2017. Antidiabetic, lipid normalizing, and nephroprotective actions of the strawberry: a potent supplementary fruit. *Int. J. Mol. Sci.* 18(1), 124.

Melis M., Yousaf N. Y., Mattes M. Z., Cabras T., Messana I., Crnjar R., Tepper B. J. 2017. Sensory perception of and salivary protein response to astringency as a function of the 6-n-propylthioural (PROP) bitter-taste phenotype. *Physiol. Behav.* 173, 163-173.

Melo P. S., Massarioli A. P., Denny C., dos Santos L. F., Franchin M., Pereira G. E., Ferreira de Souza Vieira T.M, Rosalen P.L., de Alencar, S. M. 2015. Winery by-products: extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chem.* 181, 160-169.

Miller K., Feucht W., Schmid M. 2019. Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients.* 11(7), 1510.

Moldovan B., Hosu A., David L., Cimpoi C. 2015. Total phenolics, anthocyanins, antioxidant and pro-oxidant activity of some red fruits teas. *Acta Chim. Slov.* 63(2), 213-219.

Morales-Luna E., Pérez-Ramírez I. F., Salgado L. M., Castaño-Tostado E., Gómez-Aldapa C. A., Reynoso-Camacho R. 2019. The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *J. Sci. Food Agric.* 99(2), 596-605.

Morand C., Dubray C., Milenkovic D., Lioger D., Martin J. F., Scalbert A., Mazur A. 2011. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.* 93(1), 73-80.

Moreno-Fernández S., Garcés-Rimón M., Vera G., Astier J., Landrier J. F., Miguel M. 2018. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients.* 10(10), 1502.

Muscattello M. R. A., Zoccali R. A., Bruno, A. 2018. Citrus Fruit Polyphenols and Flavonoids: Applications to Psychiatric Disorders. En: Ross-Watson R., Preedy V.R., Zibadi S. (Eds.) *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease.* Academic Press.

Ni H., Hayes H. E., Stead D., Raikos V. 2018. Incorporating salal berry (*Gaultheria shallon*) and blackcurrant (*Ribes nigrum*) pomace in yogurt for the development of a beverage with antidiabetic properties. *Heliyon.* 4(10), e00875.

Novelli E. L. B., Diniz Y. S., Galhardi C. M., Ebaid G. M. X., Rodrigues H. G., Mani F., Fernandes A. A. H., Cicogna A. C., Novelli Filho J. L. V. B. 2007. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab. Anim.* 41(1), 111-119.

Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in Foods. Dirección General de Normas. Fecha de consulta: 16/04/2019. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-317-S-1978.PDF>

Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012: Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Fecha de consulta: 24/04/2020. Disponible en: <https://www.septlaxcala.gob.mx/tiempocompleto/alimentacion/alimentacion/normatividad/NOM-043-SSA2-2012.pdf>

Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. Fecha de consulta: 14/07/2020. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/086ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011: Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba. Fecha de consulta: 16/04/2019. Disponible en: <http://dof.gob.mx/normasOficiales/4643/salud/salud.htm>

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Fecha de consulta: 16/04/2019. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf

Oliveira L.de L. de, Carvalho M.V. de, Melo L. 2014. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. Rev. Ceres. 61(Suppl), 764-779.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2020. Obesidad y sobrepeso. Fecha de consulta: 23/04/2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Oomah B. D., Cardador-Martínez A., Loarca-Piña G. 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). J. Sci. Food Agric. 85(6), 935-942.

Papoutsis, K., Pristijono, P., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Bowyer, M. C., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. 2018. Optimizing a sustainable ultrasound-assisted extraction method for the recovery of polyphenols from lemon by-products: comparison with hot water and organic solvent extractions. Eur. Food Res. Technol. 244(8), 1353-1365.

Park E., Edirisinghe I., Wei H., Vijayakumar L. P., Banaszewski K., Cappozzo J. C., Burton-Freeman B. 2016. A dose–response evaluation of freeze-dried strawberries independent of fiber content on metabolic indices in abdominally obese individuals with insulin resistance in a randomized, single-blinded, diet-controlled crossover trial. Mol. Nutr. Food Res. 60(5), 1099-1109.

Park H. J., Jung U. J., Cho S. J., Jung H. K., Shim S., Choi M. S. 2013. Citrus unshiu peel extract ameliorates hyperglycemia and hepatic steatosis by altering inflammation and hepatic glucose-and lipid-regulating enzymes in *db/db* mice. J. Nutr. Biochem. 24(2), 419-427.

Park J., Kim H. L., Jung Y., Ahn K. S., Kwak H. J., Um, J. Y. 2019. Bitter orange (*Citrus aurantium* Linné) improves obesity by regulating adipogenesis and thermogenesis through AMPK activation. Nutrients, 11(9), 1988.

Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. 2015. Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries. *Food Res. Int.* 74, 315-323.

Petanovska-Ilievska B., Velkoska-Markovska L., Jankulovska M. S. 2016. Development of reverse-phase high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of sodium benzoate and potassium sorbate in beverages. *Acta Chromatogr.* 29(3), 345-358.

Pina-Pérez M. C., Rivas A., Martínez A., Rodrigo D. 2017. Citrus Fruit Juices. En: Aguiló-Aguayo I., Plaza L. *Innovative Technologies in Beverage Processing.* John Wiley & Sons Ltd.

Puiggròs F., Muguerza B., Arola-Arnal A., Aragonès G., Suárez-García S., Bladé C., Arola L., Suárez M. 2017. Functional Beverages. En: Aguiló-Aguayo I., Plaza L. (Eds.) *Innovative Technologies in Beverage Processing.* John Wiley & Sons Ltd.

Putnik P., Bursać Kovačević D., Radojčin M., Dragović-Uzelac V. 2016. Influence of acidity and extraction time on the recovery of flavonoids from grape skin pomace optimized by response surface methodology. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 30(4), 455-464.

Quitmann H., Fan R., Czermak P. 2013. Acidic Organic Compounds in Beverage, Food, and Feed Production. En: Zorn H., Czermak P. (Eds.) *Biotechnology of Food and Feed Additives. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* 91-141. Springer, Berlin, Heidelberg

Rauf A., Imran M., Abu-Izneid T., Patel S., Pan X., Naz S., Sanches Silva A., Saeed F., Suleria, H. A. R. 2019. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomed. Pharmacother.* 116, 108999.

Razavi B. M., Hosseinzadeh H. 2019. A Review of the Effects of *Citrus paradisi* (Grapefruit) and Its Flavonoids, Naringin, and Naringenin in Metabolic Syndrome. En: Watson R., Preedy V. (Eds.) *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes.* Academic Press.

Reynoso-Camacho R., Rodríguez-Villanueva L.D., Sotelo-González A.M., Pérez-Ramírez I. F. Extractable and non-extractable polyphenol, carotenoid, and phytosterol composition of Orange, mandarin and grapefruit decoctions and by-products by LC-QTOF MS^E. Datos no publicados.

Riso P., Klimis-Zacas D., Del Bo C., Martini D., Campolo J., Vendrame S., Møller P., Loft S., De Maria R., Porrini M. 2013. Effect of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink intervention on markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function in humans with cardiovascular risk factors. *Eur. J. Nutr.* 52(3), 949-961.

Rodino S., Butu M. 2019. Herbal Extracts—New Trends in Functional and Medicinal Beverages. En: Grumezescu A.M., Holban A.M. (Eds.) *Functional and Medicinal Beverages.* Academic Press.

Rodríguez-Pérez C., Segura-Carretero A., Del Mar Contreras, M. 2019. Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59(8), 1212-1229.

Rouquié C., Dahdouh L., Delalonde M., Wisniewski C. 2019. New prospects for immersed hollow-fiber membranes in fruit juices microfiltration: Case of grapefruit juice. *J. Food Eng.* 246, 75-85.

Russo M., Arigò A., Calabrò M. L., Farnetti S., Mondello L., Dugo P. 2016. Bergamot (*Citrus bergamia Risso*) as a source of nutraceuticals: limonoids and flavonoids. *J. Funct. Foods.* 20, 10-19.

Sánchez-Moreno C., Plaza L., de Ancos B., Cano M. P. 2006. Nutritional characterisation of commercial traditional pasteurised tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity. *Food Chem.* 98(4), 749-756.

Šavikin K., Zdunić G., Janković T., Gođevac D., Stanojković T., Pljevljakušić D. 2014. Berry fruit teas: Phenolic composition and cytotoxic activity. *Food Res. Int.* 62, 677-683.

Selvamuthukumar M., Boobalan M. S., Shi J. 2017. Bioactive components in Citrus Fruits and their Health Benefits. En: Xingqian Y. *Phytochemicals in Citrus: Applications in Functional Foods.* CRC Press.

Sharma K., Ko E. Y., Assefa A. D., Ha S., Nile S. H., Lee E. T., Park, S. W. 2015. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *J. Food Drug Anal.* 23(2), 243-252.

Sicari V., Pellicanò T. M., Giuffrè A. M., Zappia C., Capocasale M., Poiana M. 2018. Physical chemical properties and antioxidant capacities of grapefruit juice (*Citrus paradisi*) extracted from two different varieties. *Int. Food Res. J.* 25(5).

Silver H. J., Dietrich M. S., Niswender K. D. 2011. Effects of grapefruit, grapefruit juice and water preloads on energy balance, weight loss, body composition, and cardiometabolic risk in free-living obese adults. *Nutr. Metab.* 8(1), 8.

Simson E. L., Gold R. M. 1982. The Lee obesity index vindicated?. *Physiol. Behav.* 29(2), 371-376.

Singh G. M., Micha R., Khatibzadeh S., Lim, S., Ezzati M., Mozaffarian, D. 2015. Estimated global, regional, and national disease burdens related to sugar-sweetened beverage consumption in 2010. *Circulation*, 132(8), 639-666.

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. *Meth. Enzymol.* 299, 152-178.

Soares S., Brandão E., Mateus N., de Freitas V. 2017. Sensorial properties of red wine polyphenols: Astringency and bitterness. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57(5), 937-948.

Socol C. R., Vandenberghe L. P., Rodrigues C., Pandey A. 2006. New perspectives for citric acid production and application. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (2) 141–149.

Song Y., Park H. J., Kang S. N., Jang S. H., Lee S. J., Ko Y. G., Kim G.S., Cho J. H. 2013. Blueberry peel extracts inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells and reduce high-fat diet-induced obesity. PLOS ONE. 8(7), e69925.

Struck S., Plaza M., Turner C., Rohm H. (2016). Berry pomace—a review of processing and chemical analysis of its polyphenols. Int. J. Food Sci. Technol. 51(6), 1305-1318.

Sun-Waterhouse D., Wadhwa, S. S. 2013. Industry-relevant approaches for minimising the bitterness of bioactive compounds in functional foods: a review. Food Bioprocess Tech., 6(3), 607-627.

Tang P., Giusti M. M. 2018. Black goji as a potential source of natural color in a wide pH range. Food Chem. 269, 419-426.

Temocico G., Sturzeanu M., Ion V., Cristea S. 2019. Evaluation of strawberry fruit quality for new selections and cultivars. Rom. Biotechnol. Lett. 24(4), 742-748.

Tola Y. B., Ramaswamy H. S. 2018. Novel processing methods: updates on acidified vegetables thermal processing. Curr. Opin. Food Sci. 23, 64-69.

Tolun A., Altintas Z. 2019. Medicinal properties and functional components of beverages. En: Grumezescu A.M., Holban A.M. (Eds.) Functional and Medicinal Beverages. Academic Press.

Turkmen N., Sari F., Velioglu Y. S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. Food Chem. 99(4), 835-841.

Varela P., Ares G. 2012. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. Food Res. Int. 48(2), 893-908.

Vatai T., Škerget M., Knez Ž. 2009. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. J. Food Eng. 90(2), 246-254.

Wijngaard H., Hossain M. B., Rai D. K., Brunton N. 2012. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. Food Res. Int. 46(2), 505-513.

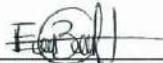
Wilson R. 2016. Developing food products for customers following a low sugar diet, including low sucrose, low fructose, and low lactose diets. En: Osborn S., Morley W. (Eds.) Developing Food Products for Consumers with Specific Dietary Needs. 155-171. Woodhead Publishing.

Yildiz S., Pokhrel P. R., Unluturk S., Barbosa-Cánovas G. V. 2019. Identification of equivalent processing conditions for pasteurization of strawberry juice by high pressure, ultrasound, and pulsed electric fields processing. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 57, 102195.

Zielinski A. A., Haminiuk C. W. 2018. Evaluation of the Phenolics and *in vitro* Antioxidant Activity of Different Botanical Herbals Used for Tea Infusions in Brazil. Curr. Res. Nutr. Food Sci. 15 (4), 345-352.

9. ANEXOS

9.1 Análisis microbiológico de bebidas control y enriquecidas de decocción

	Unidad de SERVICIOS CLÍNICOS	FACULTAD DE QUÍMICA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO Centro Universitario, Cerro de las Campanas S/N, Edificio 1, Planta baja. Tel. (442) 242.0550 y (442) 192.12.00 Ext.5517 usq.uaq@hotmail.com		
Santiago de Querétaro, Qro, 04 de diciembre de 2019.				
CLIENTE:	Ana María Sotelo González			
TIPO DE MUESTRAS:	Agua saborizada			
RECEPCIÓN DE MUESTRAS:	02/12/2019			
RESPONSABLE DE TOMA DE MUESTRA:	Cliente			
TIPO DE ANALISIS:	Microbiológico			
INFORME DE RESULTADOS				
No. muestra	Descripción de muestra	Bacterias Mesófilas Aerobias (ufc/mL)	Coliformes Totales (NMP/100mL)	Coliformes Fecales (NMP/100mL)
1	Fresa 100%	< 1	< 1.1	< 1.1
2	Fresa 3%	< 1	< 1.1	< 1.1
3	Fresa 2%	< 1	< 1.1	< 1.1
4	Mora-fresa 50%-50%	< 1	< 1.1	< 1.1
5	Mora-fresa 4%	< 1	< 1.1	< 1.1
6	Mora-fresa 2%	< 1	< 1.1	< 1.1
7	Mora azul 100%	< 1	< 1.1	< 1.1
8	Mora azul 6%	< 1	< 1.1	< 1.1
9	Mora azul 4%	< 1	< 1.1	< 1.1
Límites Permisibles NOM-201-SSA1-2015		----	< 1.1	----
<small>Metodología empleada: Norma Oficial Mexicana NOM 092-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Norma Oficial Mexicana NOM 112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. Límites permisibles de acuerdo a: Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015. Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias.</small>				
Atentamente Somos profesionales, Somos Facultad de Química				
				
Responsable M. en C. Erika Beatriz Álvarez Hidalgo				
Clinica Santa Bárbara Emilio Portes Gil S/N, M40 L17; Santa Bárbara, Corregidora, Qro. Tel. (442) 225.0171 y (442) 225.2027		Policlinica Universitaria Av. Corregidora Sur No.21-A, Col. Centro. Querétaro, Qro. Tel. (442) 212.4126		Clinica Santa Rosa Jáuregui 20 de noviembre S/N, Carr. Pie de Gallo Santa Rosa Jáuregui, Qro. Tel. (442) 291.1163

9.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos de extractos de residuos de decocción de frutos rojos

Cuadro 20. Cuantificación de compuestos polifenólicos simples y poliméricos de extractos

Extracto	Polifenoles extraíbles simples			Polifenoles extraíbles poliméricos
	Polifenoles totales (mg eq AG/mL)	Flavonoides totales (mg eq rutina/mL)	Antocianinas totales (mg eq C3G/mL)	Proantocianidinas (mg eq catequina/mL)
Fresa	0.72 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.010 ± 0.001	3.12 ± 0.11
Mora azul	1.16 ± 0.02	3.38 ± 0.09	0.115 ± 0.009	6.54 ± 0.6

9.3 Formatos aplicados en las evaluaciones sensoriales

9.3.1 Evaluación CATA (Check-all-that-apply) para decocciones de frutos rojos y cítricos

Prueba sensorial CATA (Check-all-that-apply)

Edad: _____

Sexo: _____

Frente a usted se presentan 5 muestras de decocciones de frutos rojos y cítricos. Por favor, pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. A continuación, escriba el número de muestra y marque con una **X** dentro del cuadro los sabores que usted logre identificar en cada una de las muestras. Puede ser más de una opción por muestra. No olvide enjuagar con agua su boca cada vez que termine de probar una muestra.

Muestra	Muestra	Muestra	Muestra	Muestra
Dulce	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce
Ácido	Ácido	Ácido	Ácido	Ácido
Amargo	Amargo	Amargo	Amargo	Amargo
Astringente	Astringente	Astringente	Astringente	Astringente

Comentarios: _____

9.3.2 Evaluación de aceptabilidad sensorial para bebidas de decocciones de frutos rojos y cítricos

Prueba de aceptabilidad de bebidas frutales

Edad: _____

Sexo: _____

Frente a usted se presentan 6 muestras de bebidas de frutos rojos y cítricos. Por favor, pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o disgusta el sabor de cada muestra, tachando en la opción de acuerdo al atributo, así como colocando el número de muestra en la línea correspondiente. No olvide enjuagar con agua su boca cada vez que termine de probar una muestra.

Grado de aceptabilidad	Muestra	Muestra	Muestra	Muestra	Muestra	Muestra
Me gusta mucho						
Me gusta						
No me gusta ni me disgusta						
No me gusta						
Me disgusta						
Me disgusta mucho						

Comentarios: _____

9.3.3 Evaluación de comparación de pares de bebidas de decocciones de fresa y mora azul enriquecidas con polifenoles simples y poliméricos extraíbles

Prueba de comparación de pares de bebidas de fresa y mora azul enriquecidas con polifenoles

Edad: _____

Sexo: _____

A continuación se presentan frente a usted 3 pares de muestras de bebidas diferentes. Pruebe cada uno de los pares de izquierda a derecha enjuagando su boca con agua entre cada muestra. Posteriormente, marque con una **X** en el cuadro cuál es la muestra que usted prefiere. Solo puede marcar una respuesta.

Par	Muestras codificadas												
1	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>492</td> <td></td> <td>594</td> </tr> <tr> <td></td> <td>376</td> <td></td> <td>435</td> </tr> <tr> <td></td> <td>751</td> <td></td> <td>522</td> </tr> </table>		492		594		376		435		751		522
	492		594										
	376		435										
	751		522										
2													
3													

Comentarios: _____