

## Aplicación de Ultrasonidos de Potencia en una Bebida Vegetal: Efecto sobre Compuestos Bioactivos

Meza-Plaza E.F.<sup>1</sup>, Sosa-Morales M.E.<sup>1</sup>, Morales-De la Peña M.<sup>2</sup>, Gómez-Salazar J.A.<sup>1</sup>

**1** Posgrado en Biociencias. División de Ciencias de la Vida Campus Irapuato-Salamanca Universidad de Guanajuato, México.

**2** Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Campus Querétaro Departamento de Bioingeniería, Querétaro, México. [julian.gomez@ugto.mx](mailto:julian.gomez@ugto.mx)

### RESUMEN

La preservación de los atributos de calidad (físicoquímicos, sensoriales, nutricionales y biocompuestos) de un alimento mediante tecnologías no convencionales como los ultrasonidos es uno de los principales desafíos dentro de la industria alimentaria. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del tiempo ultrasónico sobre los compuestos bioactivos de una bebida de almendras. Para ello, se sonicaron muestras de 200 mL de la bebida a 20 kHz por tiempos de 15 y 30 min a una misma amplitud de onda de 100 %, evaluando su efecto sobre compuestos fenólicos totales (CFT; mg GAE / 100 mL) y flavonoides totales (FT; mg QE / 100 mL). Los resultados obtenidos, mostraron que a tiempos de exposición más prolongados de tratamiento con ultrasonido se alcanzan mayores temperaturas (76°C) en las muestras. No se observó un efecto significativo ( $p > 0.05$ ) del tiempo sobre los biocompuestos, los compuestos fenólicos totales disminuyeron significativamente respecto al control, el contenido de flavonoides totales permaneció sin variaciones, mientras que las muestras del tratamiento térmico disminuyeron considerablemente en ambos casos.

**Palabras clave:** Bebida de almendras, compuestos bioactivos, ultrasonidos.

### ABSTRACT

The preservation of the quality attributes (physicochemical, sensory, nutritional and biocompounds) of a food through non-conventional technologies such as ultrasound is one of the main challenges within the food industry. The objective of the research was to evaluate the effect of ultrasound time on the bioactive compounds of a vegetal beverage (almond-based), for this, 200 mL samples of the drink were sonicated at 20 kHz for times of 15 and 30 min at a same wave amplitude of 100%, evaluating its effect on total phenolic compounds (CFT; mg GAE / 100 mL) and total flavonoids (FT; mg QE / 100 mL). The results obtained showed that the longer exposure ultrasound time, higher temperatures (76 °C) are reached in the samples. No significant effect ( $p < 0.05$ ) of ultrasound time was determined, the total phenolic compounds decreased significantly compared to the control, total flavonoids concentration remained unchanged, while the heat treatment samples decreased considerably in both cases.

**Keywords:** Almond beverage, bioactive compounds, ultrasound.

**Área:** Otros.

### INTRODUCCIÓN

El tratamiento térmico (TT) para el procesamiento y conservación de alimentos es el más utilizado dentro de la industria de los alimentos en el mundo, sin embargo, las condiciones de procesamiento afectan las características sensoriales, fisicoquímicas, composición nutricional, así como el contenido de sustancias bioactivas presentes en el alimento (Armendariz, 2016; Ghosh, 2019; Li & Farid, 2016). Es por ello que la industria alimentaria presenta el reto de explorar tecnologías alternas de procesamiento. En este sentido, los ultrasonidos (US por sus siglas en inglés) son una tecnología no convencional que ha demostrado un aumento sobre la productividad, el rendimiento, la selectividad y la calidad del alimento tratado (Awad, 2012). Diversas investigaciones han demostrado que los US pueden generar incremento en la tasa de extracción de compuestos intracelulares en matrices vegetales, así como en el contenido de compuestos bioactivos y sustancias antioxidantes (Aadil *et al.*, 2013; Fahmi *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015).

Los US implican la aplicación de ondas sonoras de presión a baja frecuencia (20-100 kHz) y alta intensidad (10 a 1000 W/cm<sup>2</sup>) sobre el alimento (Dolas *et al.*, 2019). La cavitación es el principio de operación la cual causa la generación, crecimiento y colapso de microburbujas de gas debido a los cambios en la presión, lo que conlleva a permeabilidad, pérdida de selectividad o desintegración de las membranas celulares con lo que se produce la liberación de material intracelular al medio (Jiménez-Sánchez *et al.*, 2017). El fenómeno de la cavitación causa tres efectos distintos sobre el alimento tratado, los efectos químicos que generan la formación de radicales libres como H<sup>+</sup> y OH<sup>-</sup>, de la descomposición de moléculas de agua en soluciones acuosas, efectos térmicos generados por la conversión de calor a través de la energía ultrasónica absorbida y los efectos mecánicos que se producen por choques mecánicos que propician la destrucción de estructuras celulares, llevando a la lisis celular e inactivación de enzimas (Butz & Tauscher, 2002; Lee & Feng, 2011; Riesz & Kondo, 1992).

En las últimas décadas, los consumidores han presentado una tendencia hacia productos poco procesados, más frescos, de buena calidad, nutritivos y sobre todo que presenten propiedades funcionales que mejoren la salud, reduzcan el riesgo de contraer enfermedades (Bhat & Stamminger, 2015; Jiménez-Sánchez *et al.*, 2017). Dentro de los alimentos que cumplen con algunas de estas necesidades, destacan las bebidas vegetales, específicamente aquellas elaboradas a base de almendras (*Prunus dulcis*) debido a su sabor, textura, alto valor nutricional y contenido de compuestos bioactivos como el  $\alpha$ -tocoferol, riboflavina, niacina, hesperidina y la verbascoside, así como fitosteroles que ayudan en la protección contra las reacciones de los radicales libres por sus propiedades antioxidantes, reducción de enfermedades crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y la diabetes (Avanish, 2019; Dhakal *et al.*, 2014; Sethi *et al.*, 2016).

Este tipo de bebidas comúnmente son conservadas mediante TT, lo cual genera cambios negativos en sus propiedades. Por lo anterior, la presente investigación tiene como objetivo principal evaluar el efecto del tiempo de aplicación de ultrasonidos sobre los compuestos bioactivos de una bebida vegetal a base de almendras. Se determinó una disminución y conservación de compuestos fenólicos y flavonoides respectivamente en los tratamientos con ultrasonido respecto al control; una mayor retención de compuestos bioactivos se puede alcanzar a los tiempos más cortos de tratamiento evaluados.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Bebida de almendras

La metodología y formulación se llevó a cabo mediante lo descrito por Maghsoudlou *et al.*, (2016) con algunas modificaciones, se remojaron almendras var. Nonpareil, crudas y sin cascara en agua (1:3 relación en peso) por un período de 16 h a 4 °C. Se escurrieron y enjuagaron con agua fría. Se retiró el tegumento a las almendras de forma manual, posteriormente fueron molidas con agua (1:9 relación en peso) por medio de una licuadora (Oster, BEST02-E01) durante 3 min. La mezcla se filtró con una triple capa de popelina de algodón por medio de una bomba de vacío, se realizó la formulación adicionando edulcorante artificial

Splenda® (0.05% p/p), lecitina de soya en polvo (0.09% p/p), almidón modificado de maíz (1.31% p/p) y goma gellan (E 418) (0.01% p/p) aplicando un proceso de homogenización con Ultra-turrax (IKA, T25 digital) a 10 000 rpm durante 2 min.

### Tratamientos con Ultrasonido

Se trataron muestras de 200 ml de bebida de almendras en un procesador ultrasónico (Q700, Qsonica, 700W RMS, USA) con una sonda estándar de titanio (#4220) de 12 mm de diámetro, que fue sumergida 2.5 cm en la bebida, los tratamientos se desarrollaron a 20 kHz, por tiempos de 30 y 15 min a una amplitud de onda del 100 %.

### Tratamiento térmico

Se trataron 200 mL de la bebida de almendras a 90 °C durante 60 s con agitación continua en placa de calentamiento, seguido de un enfriamiento a través de un baño de agua con hielo (Farhadi-Chitgar *et al.*, 2017).

### Compuestos fenólicos totales

Los CFT se determinaron por el método Folin-Ciocalteu descrito por Kumar *et al.*, (2017) con modificaciones, un volumen de 1.4 mL de la muestra se centrifugó a 14000 rpm, 10 min y 4°C en centrifuga (Z326 K, Hermle Labortechnik GmbH, Alemania), posteriormente a 200 µl del sobrenadante se añadieron 200 µl de reactivo Folin-Ciocalteu (1:4) y 200 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 0.5%. La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 60 min y se midió la absorbancia a 760 nm usando un espectrofotómetro (Genesys 10S Uv-Vis, Thermo scientific, USA) por triplicado. Los resultados se expresarán como mg de ácido gálico (GAE) /100 mL.

### Flavonoides totales

Los FT se determinaron por lo descrito por Khanam *et al.*, (2012) con modificaciones, un volumen de 1.4 mL de la muestra se centrifugó a las mismas condiciones que CFT, posteriormente se tomaron 200 µl del sobrenadante y se añadieron 50 µL de AlCl<sub>3</sub> (10% m/v), 50 µL de CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>K (1 M), 800 µL de CH<sub>3</sub>OH (80% v/v) y 1400 µL de agua destilada, se agitó la mezcla y se midió absorbancia a 415 nm en espectrofotómetro por triplicado, usando como blanco la mezcla anteriormente descrita reemplazando el volumen de sobrenadante por agua destilada. Los resultados se expresaron como mg de quercetina (QE) /100 mL.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza para un diseño factorial y una comparación múltiple de medias con el método de Tukey (p<0.05). Los datos fueron analizados en el programa Statgraphics Centurion XVI.I (Stat Point Inc., Washington, VA, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Compuestos Fenólicos Totales

En la evaluación de los compuestos bioactivos realizados a la bebida de almendras, los CFT presentes en el control fueron significativamente mayores que en las muestras tratadas con US (**Figura 1**), con un valor de  $0.53 \pm 0.1$  mg GAE/100 mL, sin embargo, el valor máximo alcanzado en muestras tratadas fue aquel a los 15 min (100-15) de tratamiento cuya concentración fue  $0.22 \pm 0.009$  mg GAE/100 mL, seguido del tratamiento 100-30 con  $0.19 \pm 0.003$  mg GAE/100 mL, mientras que el valor más bajo obtenido de compuestos fenólicos totales fue reportado en el tratamiento térmico con un valor de  $0.12 \pm 0.002$  mg GAE/100 mL.

Los valores anteriores de la concentración de CFT son menores a lo reportado por Manzoor *et al.*, (2019) para una leche de almendras con un valor de 0.708 mg GAE/g de bebida, esta degradación de compuestos puede justificarse en base a lo que menciona Shaheer *et al.*, (2014) en el que se da una mayor degradación

de antocianinas a una elevada amplitud de onda y temperatura de tratamiento en un jugo de yamun sonicado (80-90 °C, 80-100 % amplitud por 5 y 10 min).

Por lo tanto, esta disminución en los compuestos fenólicos de las muestras tratadas se puede atribuir a la degradación de dichos compuestos por las temperaturas de tratamiento alcanzadas las cuales fueron 90, 76 y 70 °C para los tratamientos TT, 100-30 y 100-15 respectivamente, aunado a la aplicación máxima de amplitud de onda de la sonda ultrasónica.

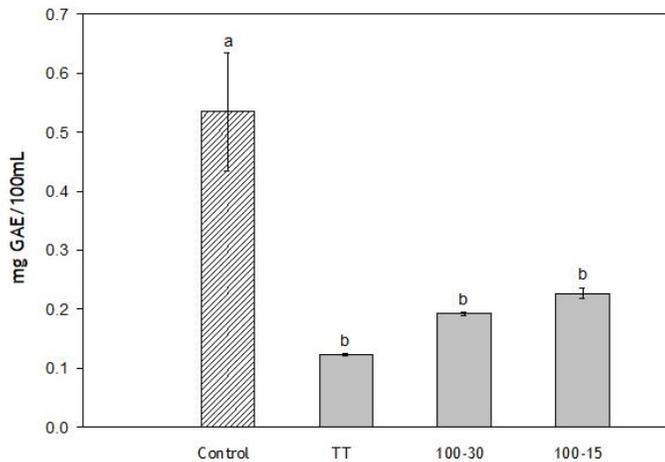
### Flavonoides Totales

En la **Figura 2** se muestra el contenido de flavonoides totales en la bebida de almendras a diferentes tratamientos.

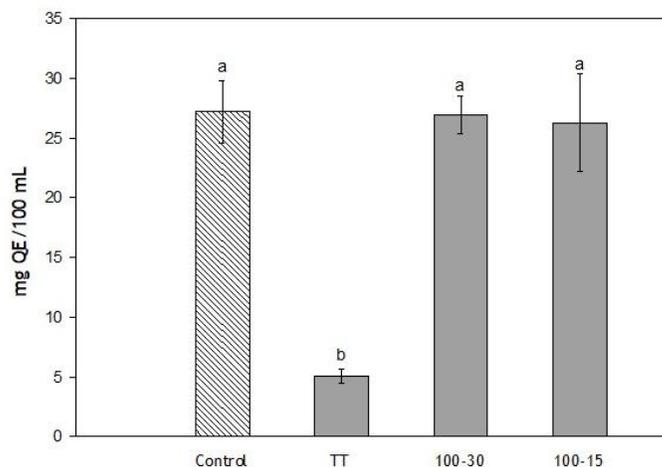
El contenido de FT se mantuvo sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre el control y las muestras tratadas a los 30 y 15 min con ultrasonidos de potencia, alcanzando valores de 26.2 y 27.2 mg QE/100 mL. Al igual que en los CFT, la muestra del tratamiento térmico registró la mayor reducción significativa ( $p < 0.05$ ) en el contenido de estos compuestos ( $5.04 \pm 0.64$  mg QE/100 mL), siendo esta reducción 5 veces mayor a la obtenida con los US.

En estudios realizados por Manzoor *et al.*, (2019) determinaron un valor mayor de FT cercano a 0.389 mg QE/g de leche de almendra, esta diferencia puede atribuirse a la formulación donde los autores antes mencionados emplean una menor relación almendra-agua 1:5 en peso, por lo que a mayor dilución en agua, la concentración de flavonoides totales disminuye.

Comparado con algunas otras investigaciones de aplicación de ultrasonidos de potencia sobre jugo de toronja (600 W, 70 %, 28 kHz, 30 a 90 min), manzana (20 kHz, 3 min, pulsos de 5 s), berberis (200 W, 20 kHz, 79 y 100 %, 10 y 15 min), mora negra (50 W, 20 kHz, 30 min) y pera (50 W, 20 kHz, 30 min) de la misma forma determinaron un incremento o mantenimiento en la concentración de biocompuestos después del tratamiento



**Figura 1** Compuestos fenólicos totales en bebida de almendra. Barra con diagonales: control, TT: tratamiento térmico, barras gris: tratamiento con sonda ultrasónica US (% amplitud de onda-Tiempo). Letras diferentes en barras indican una diferencia significativa (Tukey HSD,  $p < 0.05$ ) entre sí.



**Figura 2** Compuestos flavonoides totales en bebida de almendra. Barra con diagonales: control, TT: tratamiento térmico, barras gris: tratamiento con sonda ultrasónica US (% amplitud de onda-Tiempo). Letras diferentes en barras indican una diferencia significativa (Tukey HSD,  $p < 0.05$ ) entre sí.

ultrasónico (Aadil *et al.*, 2015; Abid *et al.*, 2015; Farhadi Chitgar *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2015; Saeeduddin *et al.*, 2016).

Con base en los resultados encontrados, se recomienda el tratamiento ultrasónico de 15 min, por su mayor retención en la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides. Sin embargo, el tratamiento con US disminuye los compuestos bioactivos en la bebida de almendra. Es necesario seguir realizando investigación con el objetivo de conservar estos compuestos de alto valor.

### **AGRADECIMIENTOS.**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo otorgado al autor E.F. Meza Plaza, a través de la beca de estudios de Maestría durante la realización de este proyecto de investigación.

### **BIBLIOGRAFÍA.**

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Han, Z., & Sun, D. W. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201-3206.
- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Wang, M. S., Liu, Z. W., Han, Z., Zhang, Z. H., Hong, J., & Jabbar, S. (2015). A potential of ultrasound on minerals, micro-organisms, phenolic compounds and colouring pigments of grapefruit juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(5), 1144–1150.
- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Saeeduddin, M., & Zeng, X. (2015). Qualitative Assessment of Sonicated Apple Juice during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1299–1308.
- Armendariz, J. (2016). *Preelaboración y conservación de los alimentos* 2ª ed. Paraninfo S.A. Consultado el 07/05/2021 en: <https://books.google.com.mx>
- Avanish, D. (2019). Global Dairy Alternatives Market is Expected to Reach USD 38.9 Billion by 2025 : Fior Markets. Consultado el 07/05/2021 en <https://www.globenewswire.com>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2), 410–427.
- Bhat, R., & Stamminger, R. (2015). Preserving Strawberry Quality by Employing Novel Food Preservation and Processing Techniques - Recent Updates and Future Scope - An Overview. *Journal of Food Process Engineering*, 38(6), 536-564.
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: Chemical aspects. *Food Research International*, 35(2–3), 279–284.
- Dhakal, S., Giusti, M. M., & Balasubramaniam, V. (2016). Effect of high pressure processing on dispersive and aggregative properties of almond milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(11), 3821–3830.
- Dolas, R., Saravanan, C., & Kaur, B. P. (2019). Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104609.

- Fahmi, R., Khodaiyan, F., Pourahmad, R., & Emam-Djomeh, Z. (2014). Effect of ultrasound assisted extraction upon the Genistin and Daidzin contents of resultant soymilk. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2857–2861.
- Farhadi Chitgar, M., Aalami, M., Maghsoudlou, Y., & Milani, E. (2017). Comparative Study on the Effect of Heat Treatment and Sonication on the Quality of Barberry (*Berberis Vulgaris*) Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(3), 12956.
- Ghosh, J. S. (2019). Cronicon EC NUTRITION Mini Review A Non-Thermal Alternative to Preservation of Soluble Liquid Foods-A Short Review, *EConicon*, 14(11), 3-5.
- Jiang, B., Mantri, N., Hu, Y., Lu, J., Jiang, W., & Lu, H. (2015). Evaluation of bioactive compounds of black mulberry juice after thermal, microwave, ultrasonic processing, and storage at different temperatures. *Food Science and Technology International*, 21(5), 392–399.
- Jiménez-Sánchez, C., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2017). Alternatives to conventional thermal treatments in fruit-juice processing. Part 1: Techniques and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(3), 501–523.
- Khanam, U. K. S., Oba, S., Yanase, E., & Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 979–987.
- Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., & Yadav, J. P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.) Burm.f. *BMC Research Notes*, 10(1), 60.
- Lee, H., & Feng, H. (2011). Effect of power ultrasound on food quality. *Food Engineering Series*, 559–582.
- Li, X., & Farid, M. (2016). A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies. *Journal of Food Engineering*, 182, 33–45.
- Maghsoudlou, Y., Alami, M., Mashkour, M., & Shahraki, M. H. (2016). Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 828–839.
- Manzoor, M. F., Ahmad, N., Aadil, R. M., Rahaman, A., Ahmed, Z., Rehman, A., Siddeeg, A., Zeng, X. A., & Manzoor, A. (2019). Impact of pulsed electric field on rheological, structural, and physicochemical properties of almond milk. *Journal of Food Process Engineering*, 42(8).
- Riesz, P., & Kondo, T. (1992). Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(3), 247–270.
- Saeeduddin, M., Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Khan, M. A., Xie, M., Wu, T., & Zeng, X. (2016). Physicochemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of sonicated pear juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1552–1559.
- Sethi, S., Tyagi, S. K., & Anurag, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3408–3423.

Shaheer, C. A., Hafeeda, P., Kumar, R., Kathiravan, T., Kumar, D., & Nadasabapathi, S. (2014). Effect of thermal and thermosonication on anthocyanin stability in jamun (*Eugenia jambolana*) fruit juice. *International Food Research Journal*, 21(6), 2189-2194.