UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL AGROINDUSTRIAL DE LOS PIGMENTOS CAROTENOIDES EXTRAÍDOS DE PIEL DE MANDARINA COMO COLORANTE NATURAL EN PRODUCTOS DE *PANIFICACIÓN*

Jessica Esparza Estrada

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería y Administración, Maestría en Ingeniería Agroindustrial

Palmira, Colombia

2019

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL AGROINDUSTRIAL DE LOS PIGMENTOS CAROTENOIDES EXTRAÍDOS DE PIEL DE MANDARINA COMO COLORANTE NATURAL EN PRODUCTOS DE *PANIFICACIÓN*

Jessica Esparza Estrada

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ingeniería Agroindustrial

Director (a):

Ph.D. Luis Eduardo Ordoñez Santos

Codirector (a):

M.Sc. Ing. Pedro Vanegas Mahecha

Línea de Investigación:

Agroindustria de productos no alimentarios

Grupo de Investigación:

Procesos Agroindustriales - GIPA

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería y Administración, Maestría en Ingeniería Agroindustrial

Palmira, Colombia

2019

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 11

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 13

3. JUSTIFICACIÓN 15

4. OBJETIVOS 17
4.1 OBJETIVO GENERAL 17
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 17

5. MARCO TEÓRICO 18
5.1 Pigmentos Naturales 18
5.2 Carotenoides 19
5.3 Métodos de extracción de los carotenoides 24
5.3.1 Extracción asistida por ultrasonido 24
5.4 Estabilidad térmica de los carotenoides 28
5.4.1 Modelado cinético 29
5.4.2 Dependencia de la temperatura de la constante de velocidad 29
5.4.3 Parámetros cinéticos 30
5.5 Diseño Plackett-Burman 32
5.6 Metodología de superficie de respuesta 33

6. ESTADO DEL ARTE 38

7. MATERIALES Y MÉTODOS 48
7.1 Acondicionamiento de la materia prima 48
7.2 Análisis físico químicos 49
7.2.1 Materia seca 49
7.2.2 Color 49
7.2.3 Actividad de agua (aw) 49
7.2.4 pH 50
7.2.5 Acidez 50
7.2.6 Determinación de compuestos fenólicos totales 50
7.2.7 Determinación de la capacidad antioxidante (% DPPH) 50
7.3 Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina 51
7.3.1 Índice de absorción de agua e índice de absorción de aceite 51
7.3.2 Poder de hinchamiento 52
7.3.3 Expansión de cocción 52
7.3.4 Determinación del contenido de carotenoides 52

7.4 Primer objetivo: “Optimizar el proceso de extracción asistido por ultrasonido (EAU) de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*)” 53
7.4.1 Tratamiento ultrasónico 53
7.4.2 Cuantificación de los carotenoides totales 53
7.4.3 Diseño experimental 54
7.5 Segundo objetivo: “Evaluar la estabilidad térmica de los extractos carotenoides obtenidos de la piel de mandarina como fuente de colorante natural en productos de panificación” 57
7.5.1 Aplicación del extracto oleoso de epicarpio de mandarina en productos de panificación 57
7.5.2 Perfil de temperatura de los productos horneados 59
7.5.3 Análisis de los parámetros físicos en los productos horneados 59
7.5.4 Modelado cinético de carotenoides 59
7.6 Análisis estadístico 60

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 62
8.1 Caracterización fisicoquímica de la harina de piel de mandarina 62
8.1.1 Propiedades fisicoquímicas en la harina de piel de mandarina 62
8.1.2 Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina 65
8.1.3 Concentración de carotenoides en la harina de piel de mandarina 67
8.2 Primer objetivo: “Optimizar el proceso de extracción asistido por ultrasonido (EAU) de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*)” 69
8.2.1 Determinación de variables independientes en la extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en la piel de mandarina 69
8.2.2 Determinación de puntos centrales 73
8.2.3 Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en el epicarpio de mandarina 77
8.3 Segundo objetivo: “Evaluar la estabilidad térmica de los extractos carotenoides obtenidos de la piel de mandarina como fuente de colorante natural en productos de panificación” 84
8.3.1 Aplicación del extracto oleoso de piel de mandarina en productos de panificación 84
8.3.2 Perfil de temperatura en los productos horneados 86
8.3.3 %Pérdida de peso y %humedad de los productos horneados 89
8.3.4 Cinética de degradación de carotenoides 92

9. CONCLUSIONES 107

10. BIBLIOGRAFÍA 109

LISTA DE FIGURAS

Figura 5-1: Estructura química de los principales carotenos (I) y xantofilas (II). 20
Figura 5-2: Vía de biosíntesis de carotenoides. 22
Figura 5-3: Esquema general de la degradación oxidativa de los carotenoides. 23
Figura 5-4: Diagrama del funcionamiento de un transductor ultrasónico Langevin. 25
Figura 5-5: Diseños centrales compuestos para la optimización de: (a) dos variables ($\propto = 1{,}41$) y (b) tres variables $\propto = 1{,}68$). (●) Puntos de diseño factorial, (○) puntos axiales y (□) punto central. 34
Figura 5-6: Puntos que representan las corridas experimentales de un diseño Box-Behnken de tres factores. 35
Figura 5-7: Diseño hexagonal de dos factores de Doehlert con tres posibles desplazamientos en el espacio experimental. 36
Figura 8-1: Efecto de los factores de extracción sobre el rendimiento de extracción de carotenoides totales presente en epicarpio de mandarina. (A) efecto de la relación solido-liquido (B) Efecto de la temperatura, (C) Efecto del tiempo de extracción y (D) Efecto del tamaño de partícula. 75
Figura 8-2: Gráficos de superficie de respuesta sobre el rendimiento de extracción de carotenoides totales (mg β-caroteno/ 100 g de muestra seca) presente en piel de mandarina en relación con los efectos de Temperatura, Tiempo y Relación solido-liquido. (A) Temperatura (°C) vs Tiempo (min); (B) Temperatura (°C) vs Relación s/l (g/ml); (C) Tiempo (min) vs Relación s/l (g/ml). 82
Figura 8-3: Perfil de temperatura de la miga (A) y corteza (B) durante la cocción del pan. 87
Figura 8-4: Perfil de temperatura de la miga durante la cocción en torta. 88
Figura 8-5: Perfil de temperatura de la miga durante la cocción en galleta. 89
Figura 8-6: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en pan. 90
Figura 8-7: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en torta. 91
Figura 8-8: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en galleta. 91
Figura 8-9: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en torta. 94
Figura 8-10: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en galleta. 95
Figura 8-11: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en pan. 96

Figura 8-12: Arrhenius para la degradación térmica de carotenoides β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno en torta (a), galleta (b) y pan (c), durante el horneado 102

LISTA DE TABLAS

Tabla 7-1: Niveles de los factores utilizados en el diseño Plackett-Burman. 54
Tabla 7-2: Niveles codificados. 56
Tabla 7-3: Formulación para la elaboración de galleta, pan y torta. 57
Tabla 8-1: Parámetros fisicoquímicos de la piel de mandarina en fresco y deshidratado. 62
Tabla 8-2: Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina. 65
Tabla 8-3: Contenido de carotenoides presente en la piel de mandarina en fresco y deshidratado. 68
Tabla 8-4: Efecto de los factores individuales en la concentración de carotenoides totales. 70
Tabla 8-5: Efecto de los factores y análisis estadístico (ANOVA) del diseño Plackett-Burman.....70
Tabla 8-6: Diseño central compuesto DCC centrado en la cara y datos experimentales.78
Tabla 8-7: Análisis estadístico de ANOVA para el modelo polinomial cuadrático ajustado en la optimización de los parámetros de extracción.....80
Tabla 8-8: Contenido de carotenoides en los productos de panificación. 85
Tabla 8-9: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en torta entre 190 y 230°C 98
Tabla 8-10: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en galleta entre 150 y 190°C 99
Tabla 8-11: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en pan entre 160 y 200°C. 99
Tabla 8-12: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en torta entre 190 y 230 °C 103
Tabla 8-13: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en galleta entre 150 y 190 °C 103
Tabla 8-14: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en pan entre 160 y 200 °C 104

RESUMEN

Este trabajo de investigación implementa la extracción de carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*), evaluando su potencial agroindustrial como opción de pigmento natural en productos de panificación como posible sustituyente del colorante artificial tartrazina, el proceso de extracción se hace por ultrasonido usando la metodología de optimización de superficie de respuesta con el fin de obtener el mayor rendimiento de carotenoides en el extracto. Se determinó que, a temperatura de 60°C, un tiempo 43 min y una relación sólido-líquido 0,0016g/4ml, se obtienen carotenoides totales con la máxima concentración de 129,30±2,56mg/100g de muestra seca. Posteriormente se evaluó la estabilidad térmica de los extractos carotenoides como fuente de color natural en productos de panificación: torta, pan y galleta encontrando que los carotenoides más estables son α-caroteno y β-caroteno en torta, licopeno y β-caroteno en galleta y β-criptoxantina y zeaxantina en pan, donde todos siguieron una cinética de degradación térmica que siguió una reacción de primer orden con un coeficiente de correlación de $R^2 > 0,80$ y una energía de activación (E_a) con coeficiente de correlación de R^2 entre 0,84 y 0,99 en todos los productos de panificación evaluados. Al final se puede concluir que el efecto de pigmentacion de los carotenoides en los productos estudiados logra tener un color muy cercano a los tratamientos usados de control que contenian tartrazina y que además son buena fuente de nutrientes y adicionan propiedades funcionales a estos productos.

ABSTRACT

This research work implements the extraction of carotenoids present in the tangerine skin (*Citrus reticulata*), evaluating its agroindustrial potential as a natural pigment option in bakery products as a possible substituent of the artificial tartrazine dye, the extraction process is done by ultrasound using The response surface optimization methodology in order to obtain the highest yield of carotenoids in the extract. It was determined that, a temperature of 60 ° C, a time of 43 min and a solid-liquid ratio 0,0016g / 4ml, total carotenoids with the maximum concentration of 129,30 ± 2,56mg / 100 g of dry sample. Subsequently, the thermal stability of carotenoid extracts is evaluated as a source of natural color in bakery products: cake, bread and biscuit, finding that the most stable carotenoids are α-carotene and β-carotene in cake, lycopene and β-carotene in biscuit and β-cryptoxanthin and zeaxanthin in bread, where all followed a thermal degradation kinetics that followed a first order reaction with a correlation coefficient of R^2> 0,80 and an activation energy (E_a) with a correlation coefficient of R^2 between 0,84 and 0,99 in all bakery products evaluated. In the end it can be concluded that the effect of pigmentation of carotenoids in the products studied manages to have a color very close to the used control treatments that contain tartrazine and that are also a good source of nutrients and additions and functional properties to these products.

1. INTRODUCCIÓN

La adición de colorantes es una práctica general en la industria alimentaria mundial, éstos dan la percepción al consumidor de frescura y buena calidad siendo determinantes a la hora de elegir un producto. Aunque existen muchas regulaciones por sus efectos adversos a la salud, los pigmentos artificiales ocupan un renglón importante en la producción mundial de alimentos, lo que ha determinado esfuerzos en la investigación para reemplazarlos por colorantes naturales que además de pigmentar los alimentos también mejoran el valor nutricional.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo realizar la extracción de carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*) y evaluar su potencial agroindustrial como opción de pigmento natural, el proceso de extracción se hace por ultrasonido usando la metodología de optimización de superficie de respuesta con el fin de obtener el mayor rendimiento de carotenoides en el extracto. Finalmente se evalúa la estabilidad térmica de los extractos carotenoides como fuente de color natural en productos de panificación: torta, pan y galleta para que puedan ser usados como alternativa a los colorantes artificiales como la tartrazina.

Es importante destacar en este proyecto el uso del epicarpio de mandarina que resulta como gran parte de los restos generados del procesamiento de cítricos en la industria de zumos y refrescos, este sector económicamente se ubica en un puesto importante en la producción de frutas del país. Estos residuos normalmente no son aprovechados y más bien son un problema ambiental debido a los requerimientos bioquímicos que requiere la piel de la mandarina para su degradación. De esta manera se puede demostrar el potencial que tienen como materia prima en la fabricación de productos alimenticios en el país.

Debido a lo anterior, se han realizado varios estudios sobre la caracterización de pulpa y epicarpio de frutas cítricas, como los realizados por De Moraes Barros, De Castro Ferreira, & Genovese, (2012), los autores caracterizaron cuatro especies de cítricos cultivados en

Brasil (*C. sinensis, cvs*. Pera y Lima; *C. latifolia tanaka cv*. Tahiti; *C. limettioides tanaka cv*. Sweet lime y *C. reticulate, cv*. Ponkan) en relación con el contenido de minerales, ácido ascórbico, polifenoles totales y capacidad antioxidante de pulpas y epicarpio. Los autores encontraron que la mandarina Ponkan presentó mayor capacidad antioxidante y en general el epicarpio de las variedades estudiadas presentaron un contenido estadísticamente mayor de todos los compuestos evaluados en comparación de la pulpa; Yoo & Moon, (2016) determinó el contenido total de carotenoides, vitamina C y capacidad antioxidante de tres variedades de cítricos cultivados en la parte sur de Corea que son Yuza (*Citrus junos sieb ex tabaka*), Kjool (*Citrus unshiu marcow*) y Dangyooja (*Citrus grandisosbeck*). Los autores identificaron siete carotenoides de los cuales predominan la β-criptoxantina, astaxantina y zeaxantina y también encontraron que la variedad Yuza contiene cantidades más altas de carotenoides y vitamina C.

Despues del desarrollo de esta investigacion se puede observar que al usar la metodologia propuesta para la extraccion de los carotenoides en la piel de mandarina, la relación cuadrática de los parámetros de extracción temperatura (°C), tiempo (min) y relación solido-liquido (g/4ml) tiene un efecto significativo en la extracción. La mejor combinación de los parámetros de extracción para obtener un mayor rendimiento de carotenoides fueron temperatura 60 °C, tiempo 43 min y relación solido-liquido 0,0016 g/4ml.

Al evaluar el efecto de pigmentacion de los carotenoides en productos de panificacion se logra tener una variacion de color muy cercana a los tratamientos usados de control que contenian tartrazina, concluyendo que se puede considerar a los carotenoides extraidos de la piel de la mandarina una alternativa de colorantes naturales que ademas adicionan calidad nutricional y propiedades funcionales a los productos de panificación

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de colorantes alimentarios está regulado, esta regulación consiste en permitir o prohibir el uso y controlar los niveles de aplicación de ciertos colorantes artificiales que puedan traer efectos adversos sobre la salud humana. A pesar que varios colorantes artificiales han sido prohibidos o se ha desestimado su uso, en Colombia se siguen utilizando con la aprobación del ministerio de salud como la resolución 10593 DE 1985 que de manera explícita permite el uso de colorantes conocidos como nocivos para la salud como la tartrazina o amarillo N° 5, rojo cochinilla A, entre otros (Ibáñez, Torres, & Irigoyen, 2003).

En la industria alimentaria, predomina el uso de colorantes artificiales debido a que presentan ciertas ventajas sobre los colorantes naturales, tales como la alta estabilidad a la temperatura, falta de oxidación, uniformidad de color, baja contaminación microbiana y bajos costos de producción (Stachová et al. 2016). Sin embargo, se han relacionado ciertas enfermedades como lo son las erupciones cutáneas, el asma bronquial (De Andrade et al. 2014), problemas del sistema inmunológico y ciertas reacciones alérgica (Shen et al. 2014) con el alto consumo de productos procesados que contienen colorantes artificiales. También se les atribuye la responsabilidad del comportamiento impulsivo, hiperactivo y del trastorno del déficit de atención en niños (Stachová et al. 2016). Se ha demostrado que la tartrazina o amarillo 5, amarillo quinolina, amarillo del atardecer, 4R de ponceau, rojo allura y carmoisina influyen considerablemente con el aumento del comportamiento hiperactivo en los niños (Oplatowska-Stachowiak & Elliott, 2017).

En los últimos años, la agroindustria de cítricos en Colombia ha mostrado un crecimiento significativo, originado por la expansión del mercado de los derivados de frutas como jugos, concentrados, néctares, pulpas entre otros (Navarrete et al. 2010). Se estimó que, para el año 2017 la industria de cítricos mundial, produjo más de 120 millones de toneladas, de las cuales el 40% fue utilizado para la extracción de zumo, quedando como residuos la piel o cáscara, las semillas y parte de la pulpa; al mismo tiempo, se estima que la producción de estos residuos cítricos mundialmente se aproxima a los 20 millones de toneladas (Peñaranda Gonzalez et al. 2017). Estos restos están compuestos principalmente de grasas, azúcares libres, ácidos orgánicos, polímeros de carbohidratos, enzimas, flavonoides, aceites esenciales y pigmentos (Satari & Karimi, 2018), y tienen un gran potencial para ser utilizados como materias primas en la elaboración de productos comerciales importantes; uno de ellos los colorantes naturales.

Existen reportes científicos que informan que los residuos de los cítricos son una fuente importante de carotenoides, estos pueden alcanzar valores entre 11 a 204 mg/ 100 g de muestra seca, siendo los carotenoides más representativos el α-caroteno, β-caroteno, luteína, zeaxantina y β-criptoxantina (Putnik et al. 2017; Sharma et al. 2017), además estos investigadores sugieren que lo residuos de los cítricos pueden ser utilizados como alternativa a los colorantes sintéticos en la industria de alimentos. Dado que el crecimiento de la agroindustria de cítricos procesados en Colombia genera una mayor demanda que incrementa la producción de frutas cítricas, y así mismo una mayor producción de residuos orgánicos provenientes de la industrialización de cítricos, surgen las siguientes preguntas de investigación:

¿Es posible extraer los pigmentos carotenoides de la piel de mandarina por medio de la extracción asistida por ultrasonido?

¿Podrán los extractos de carotenoides obtenidos de la piel de mandarina servir como una alternativa de colorante natural en productos de panificación?

3. JUSTIFICACIÓN

A los colorantes naturales se les considera por lo general inocuos y tienen menos limitaciones específicas sobre su uso en comparación a los artificiales. El colorante natural además de aportar color proporciona un valor agregado al producto enriqueciendo su composición nutricional ya que, al ser natural, el cuerpo humano es capaz de reconocerlos metabólicamente y asimilarnos con mayor facilidad, además, en algunos casos estos también aportan valor a sus características organolépticas, por ejemplo, el aroma (Murador et al. 2019; Rodriguez-Amaya, 2016). En la industria de alimentos, como el caso de la panificación, se utiliza una serie de colorantes naturales que son responsables de conferir al producto terminado el color amarillo, tales como: E-100 Curcumina, E-101 Riboflavina (vitamina B2), E-161 grupo de Xantofilas y E-160 el grupo de Carotenoides; estos últimos se pueden extraer de residuos de fuentes naturales como las frutas cítricas (Sánchez Juan, 2013).

Este proyecto de tesis genera conocimientos científicos que pueden ser transferidos a los productores frutícolas, con el fin de mejorar su competitividad al tener una alternativa en la participación de los mercados nacionales e internacionales de pigmentos naturales, ya que su demanda mundial viene en crecimiento, así como el consumo mundial de las tinturas naturales en la industria de alimentos fue de 72.281 ton en 2011, y se espera que crezca a una tasa anual compuesta de 5,2% entre 2015 y 2020 con respecto al consumo delos de origen sintético (FAO/OMS, 2014).

El crecimiento en la producción de colorantes naturales, se refleja en las ventas a nivel mundial, donde paso de 600 millones en el 2011 a 1,30 billones de dólares en el 2017 (Food Desing Product, 2015). Igualmente, nuestro país se puede sintonizar con los lineamientos de organismos internacionales como la European Food Safety Authority

(EFSA) y la Food and Drug Administration (FDA) quienes recomiendan la utilización de pigmentos naturales en la producción de alimentos, es así como estas entidades recomiendan remplazar la Tartrazina (E102) pigmento altamente utilizado en la industria de alimentos por carotenoides naturales (Chapman, 2011). Unido a lo anterior, esta tesis de maestría contribuye positivamente a la reducción de las brechas tecnológicas que se presentan en la cadena frutícola al generar nuevos procesos y productos de mayor valor agregado, impactando positivamente la productividad y competitividad de la cadena frutícola, la reducción de los costos ambientales al disminuir las descargas en los medios acuáticos y en los vertederos municipales.

Es conveniente subrayar que, para la extracción de los carotenoides presentes en el epicarpio de la mandarina, se utiliza el método de extracción asistido por ultrasonido; técnica de extracción física que es amigable con el ambiente, de bajo costo y altos rendimientos en comparación con los métodos convencionales.

Adicionalmente, el desarrollo de esta investigación permite ampliar la frontera del conocimiento sobre la valorización de los residuos de frutas como fuente pigmentos naturales en la industria alimentaria, ya que a la fecha, la comunidad científica reporta escasos estudios en la utilización de los residuos de cítricos como colorante natural, es el caso del trabajo de Tovar-Jiménez et al. (2015) y Ruiz-Armenta et al. (2017)que utilizaron entre el 8 y 10% de harina de residuo de naranja como colorante natural en la formulación de un alimento tipo snack.

El estudio en cuestión permite conocer si es posible emplear los carotenoides extraídos del epicarpio de mandarina como colorante natural en los productos de panificación mediante la evaluación térmica frente a la temperatura de horneado con el fin de sustituir el uso de pigmentos artificiales empleados altamente en esta industria y obtener así, productos funcionales que cumplan con las características de las exigencias comerciales. La inestabilidad de los carotenoides se debe a que son compuestos insaturados, en efecto son altamente afectados por factores como la temperatura, luz y pH. La optimización de la extracción permite conocer los parámetros óptimos de extracción asistida por ultrasonido en los cuales se puede obtener los mayores rendimientos o concentraciones de carotenoides en los extractos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial agroindustrial de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*) como alternativa de colorante natural en la industria de panificación.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Optimizar el proceso de extracción asistido por ultrasonido de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina.

Evaluar la estabilidad térmica de los extractos carotenoides obtenidos de la piel de mandarina como fuente de colorante natural en productos de panificación.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Pigmentos Naturales

El color es producido por el reflejo de la luz en los objetos y su percepción en el ojo humano, en los comestibles es el primer atributo que los consumidores usan a la hora de elegir un producto, dado que los alimentos procesados o naturales tienen un color bien definido que es identificable y que le da una percepción de calidad al consumidor final (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

Un “color natural” es un pigmento obtenido de la naturaleza derivado de las plantas, insectos o animales, minerales y microorganismos. Los colorantes naturales son biodegradables, renovables, respetuosos con el medio ambiente y son conocidos por su aplicación en teñido textil, industria alimentaria, cosmética y farmacéutica; Los pigmentos vegetales se pueden dividir en diferentes grupos, incluidos los flavonoides como antocianinas, carotenoides como beta caroteno, clorofilas, betalaínas y otros como curcumina y carthamina (Aruldass et al. 2018; Shakeri et al. 2018).

Los pigmentos naturales sirven como una posible “química verde” viable para reemplazar los colorantes sintéticos (Aruldass et al. 2018), ya que los colorantes sintéticos o colorantes artificiales que son utilizados ampliamente en la industria alimentaria han sido directamente relacionados con ciertas enfermedades como: Las erupciones cutáneas, el asma bronquial (De Andrade et al. 2014), problemas del sistema inmunológico, ciertas reacciones alérgicas (Shen et al. 2014) e influencia en el comportamiento impulsivo, hiperactivo y del trastorno del déficit de atención en niños (Stachová et al. 2016).

En la industria de alimentos, como el caso de la panificación, se utilizan una serie de colorantes naturales que son responsables de conferir al producto terminado el color amarillo, tales como: E-100 Curcumina, E-101 Riboflavina (vitamina B2), E-161 grupo de Xantofilas y E-160 el grupo de Carotenoides; estos últimos se pueden obtener extrayéndolos a partir del aprovechamiento de residuos de fuentes naturales como los de las frutas cítricas.

Los colorantes tienen múltiples aplicaciones en la industria con el propósito de teñir o realzar el color de un producto, el uso de los colorantes en el 2016 estuvo entre 40.000 y 50.000 toneladas donde las ventas mundiales de pigmentos sintéticos fueron de US$400 millones y las de pigmentos naturales de US$1300 millones y se espera que para el año 2023 estén cerca US$2100, esta cifra debido al aumento del uso de colorantes naturales sobre los sintéticos (Rojas et al. 2017). En Colombia según cifras del DANE, (2019) las importaciones de Materias tintóreas, curtientes y colorantes pasaron de 34.244 a 36.539 Millones de dólares CIF (Costo, Seguro y Flete) entre julio de (2018 y 2019) determinando un aumento de 6,7%.

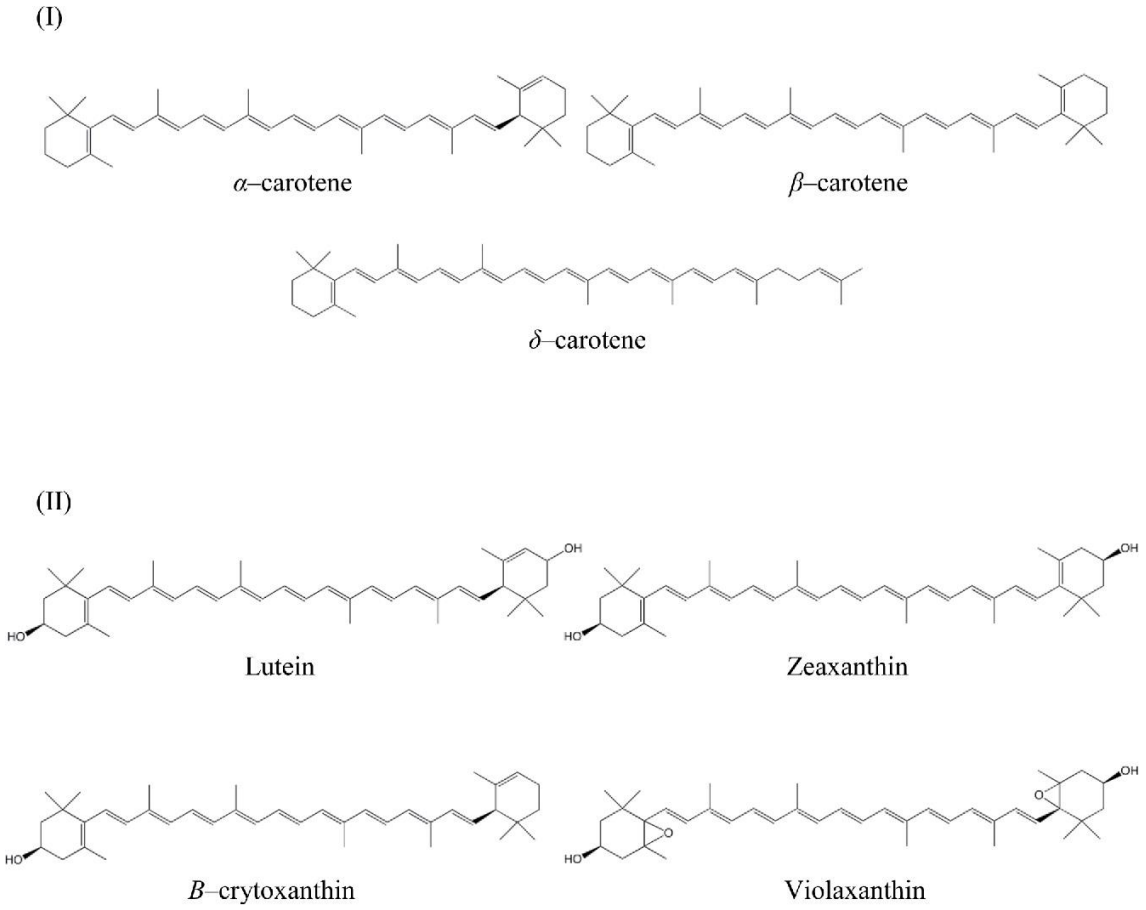
5.2 Carotenoides

Los carotenoides representan una clase de pigmentos naturales solubles en lípidos (Schweiggert, 2018), responsables de los colores amarillo, naranja y rojo de muchas frutas, hortalizas, plantas y animales. Presentan en su molécula un cromóforo consistente total o una cadena de dobles enlaces conjugados que son los responsables de la intensa coloración de los alimentos que contienen estos pigmentos (Meléndez-Martínez et al. 2004). Para que un carotenoide produzca color se requieren al menos siete enlaces dobles conjugados, este atributo se acentúa a medida que se extiende el sistema conjugado (Meléndez-Martínez et al. 2007)

Los carotenoides tienen dos ramas principales: ramas α y β, las ramas α son más dominantes en las hojas de casi todas las especies de plantas, produciendo α-caroteno y luteína, mientras que las ramas β producen β-caroteno, zeaxantina, violaxantina y neoxantina (Yan et al. 2018). Según su estructura, se pueden dividir en dos grupos: 1. Carotenos: constituidos por carbono e hidrogeno, tales como alfa-caroteno, beta-caroteno y licopeno; y 2. Xantofilas: constituidas por carbono, hidrogeno y oxígeno

(Ngamwonglumlert et al. 2017). Ver figura 5-1. El oxígeno puede estar presente como grupo hidroxilo, metoxilo, epoxi, carboxilo o carbonilo (Meléndez-Martínez et al. 2004).

Figura 5-1: Estructura química de los principales carotenos (I) y xantofilas (II).



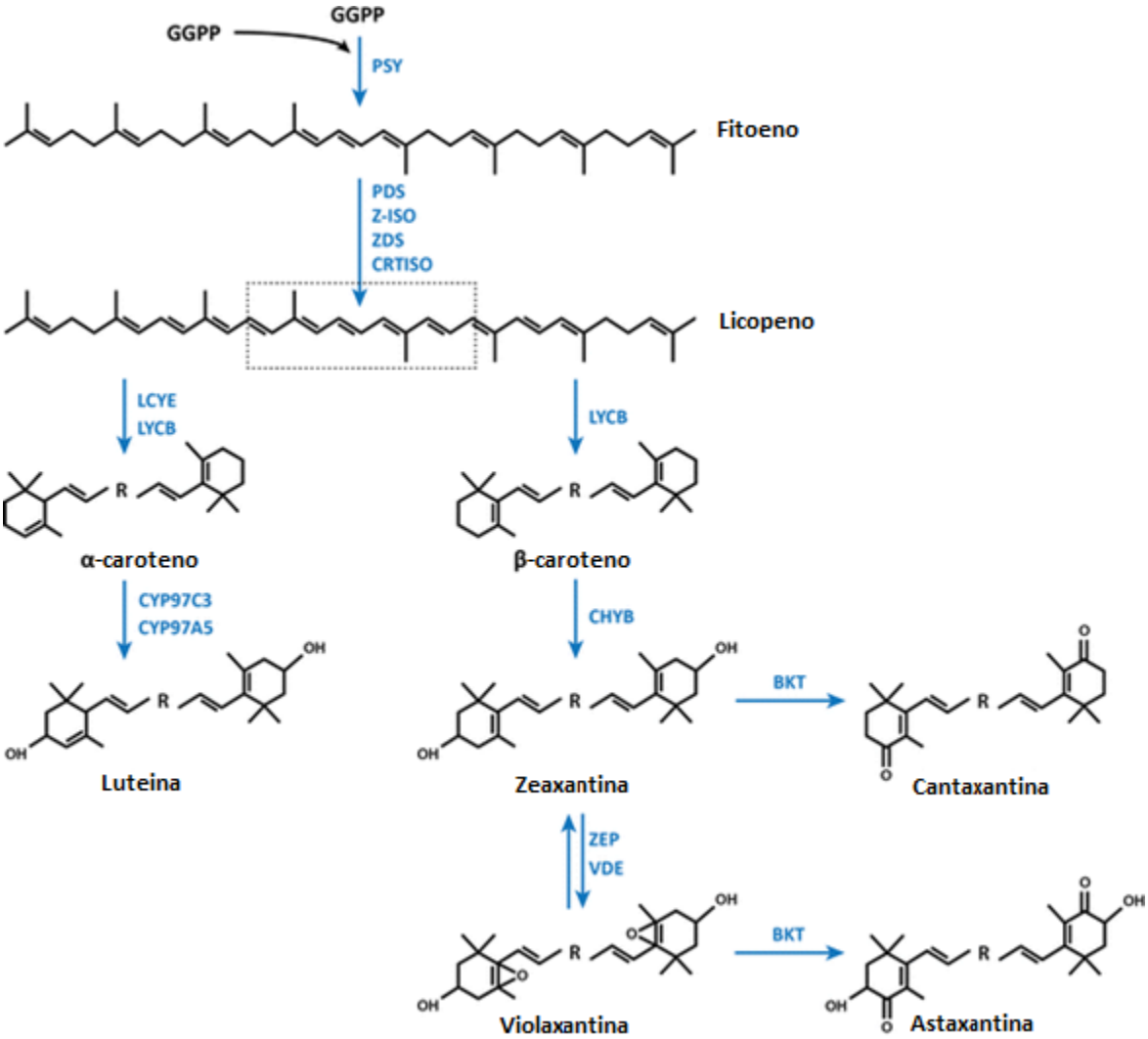
Fuente: (Ngamwonglumlert et al. 2017).

La mayoría de los carotenoides son derivados del pigmento tetraterpenoide C40 fitoeno (Saini & Keum, 2018). Los terpenoides son metabolitos importantes presentes en las plantas y representan una clase de hidrocarburos que tienen funciones en la fotosíntesis, respiración y regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas (W. Li et al. 2017). Todos los terpenoides se derivan de la condensación de dos precursores universales de cinco carbonos (C5) isopentenil disfosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMAPP) (Moise, Al-Babili, & Wurtzel, 2014). Existen dos vías responsables de la síntesis de precursores

isoprenoides IPP y DMAPP y son la vía metileritritol 4-fosfato (MEP) y/o acetato-mevalonato (MVA) para producir monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15) y diterpenos (C20) bajo la catálisis de varios terpenos sintasa (TPS) (W. Li et al. 2017). La vía MEP es utilizada para la síntesis de isoprenoides por la gran mayoría de eucariotas, incluidas las cianobacterias fotosintéticas, algas y todos los protistas de apicomplexano, incluidos los parásitos patógenos, mientras que la vía MVA es utilizada por las arqueobacterias, hongos y animales en la síntesis de isoprenoides. (Moise et al. 2014).

Varela et al. (2015) en su estudio expone la biosíntesis de carotenoides en los siguientes pasos (Ver figura 5-2): El primer paso de la biosíntesis de carotenoides es la condensación de dos moléculas de pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) para producir el primer carotenoide incoloro, fitoeno, catalizado por la fitoeno sintasa (PSY). A partir de este paso, el fitoeno se somete a cuatro desaturaciones secuenciales catalizadas por fitoeno (PDS) y desaturasas de ς-caroteno (ZDS), lo que resulta en la formación de pro-licopeno, que es isomerizado por una isomerasa específica (CRTISO) a trans- licopeno, el primer carotenoide coloreado. A nivel de licopeno, la vía se divide en dos ramas. En una rama, el licopeno se cicla en ambos extremos por la β- ciclasa de licopeno (LCYB), produciendo β- caroteno con dos grupos terminales β- iónicos. Estos adicionalmente pueden ser hidroxilados por una di-hierro hidroxilasa no hemo, β- caroteno hidroxilasa (CHYB) para producir zeaxantina. En la otra rama, la acción concertada de LCYB y ε- ciclasas (LCYE) da como resultado la formación de α-caroteno. Las actividades relativas de LCYE y LCYB determinan la proporción de carotenoides dirigidos a cada rama de la vía. La hidroxilación de α-caroteno catalizada por dos monooxigenasas de citocromo P450 que contienen hemo, una β -hidroxilasa de caroteno (CYP97A5) y una ε -hidroxilasa de caroteno (CYP97C3) conduce a la formación de luteína. La zeaxantina epoxidasa (ZEP) convierte la zeaxantina en violaxantina, que inserta dos grupos epoxi en las posiciones C-5,6 y C-5', 6'. En condiciones de mucha luz u otras situaciones de estrés, la violaxantina se puede despoxidar nuevamente a zeaxantina mediante la violaxantina despoxidasa (VDE).

Figura 5-2: Vía de biosíntesis de carotenoides.



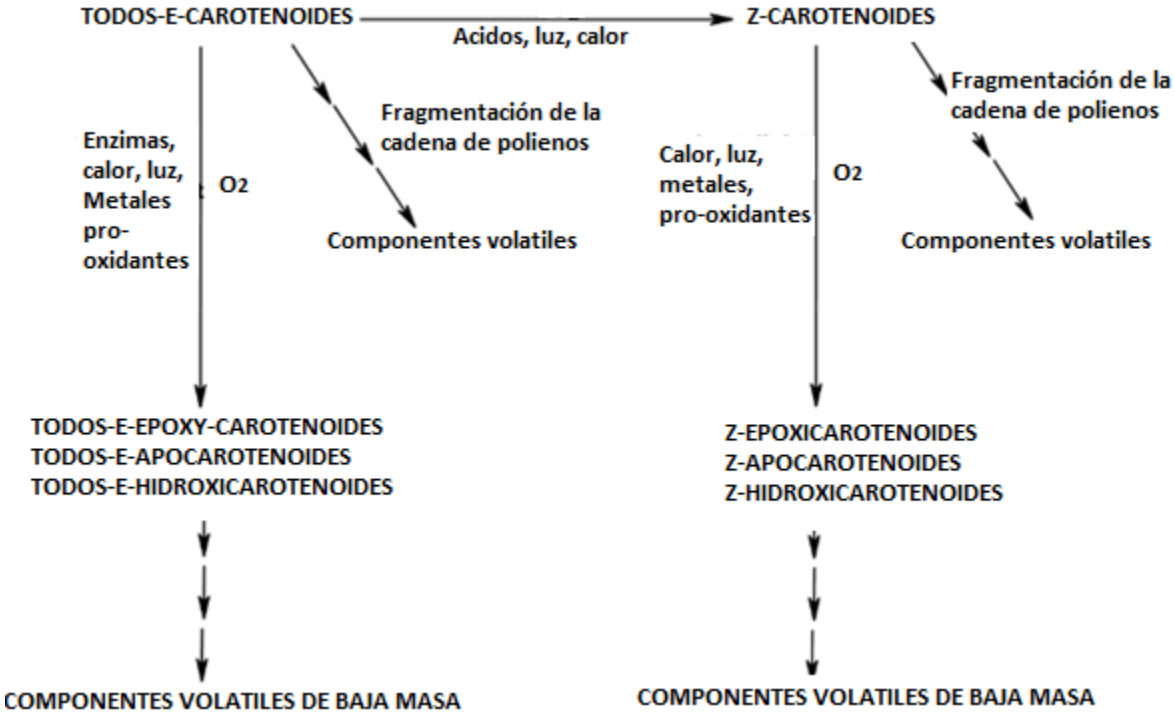
Fuente: (Varela et al. 2015)

Los carotenoides pueden clasificarse en provitamina A, por ejemplo, B-caroteno, B-criptoxantina y mutatocromo y no provitamina A que no pueden convertirse en retinianos, por ejemplo, luteína y licopeno (Saini & Keum, 2018).

La cadena de polieno constituye el cromóforo absorbente de luz que le da a los carotenoides su color atractivo y es el principal responsable de sus propiedades y funciones especiales. Sin embargo, también hace que la molécula sea susceptible a la

isomerización geométrica y a la degradación oxidativa enzimática o no enzimática (Rodriguez-Amaya, 2015). La oxidación no enzimática también llamada auto oxidación, se acompaña de isomerización geométrica de los isómeros Z y E (ver figura 5-3); inicialmente implica epoxidación, escisión directa de la cadena de polieno y en apocarotenales e hidroxilación, dando como resultado compuestos más volátiles de bajo peso molecular (Rodriguez-Amaya, 2016, 2019). Los factores responsables de la degradación de los carotenoides son principalmente: Oxígeno, luz, temperatura, pH, iones metálicos, peróxido y enzimas. (Meléndez-Martínez et al. 2004; Ngamwonglumlert et al. 2017). La degradación de estos pigmentos reduce el valor nutritivo de los alimentos e induce una decoloración y una pérdida de sus características organolépticas.

Figura 5-3: Esquema general de la degradación oxidativa de los carotenoides.



Fuente: (Rodriguez-Amaya, 2019)

La principal actividad biológica de los pigmentos carotenoides es contribuir al proceso de fotosíntesis al actuar como fotoprotector, absorber el exceso de energía, y desactivar el

oxígeno singlete en la célula vegetal. Otra función de estos pigmentos es contribuir con color a los frutos y semillas con fin de atraer los animales para que actúen como vectores en la diseminación, asegurando así el éxito reproductivo y la perpetuación de la especie (Meléndez-Martínez et al. 2007; Mosquera & Hornero, 2005).

5.3 Métodos de extracción de los carotenoides

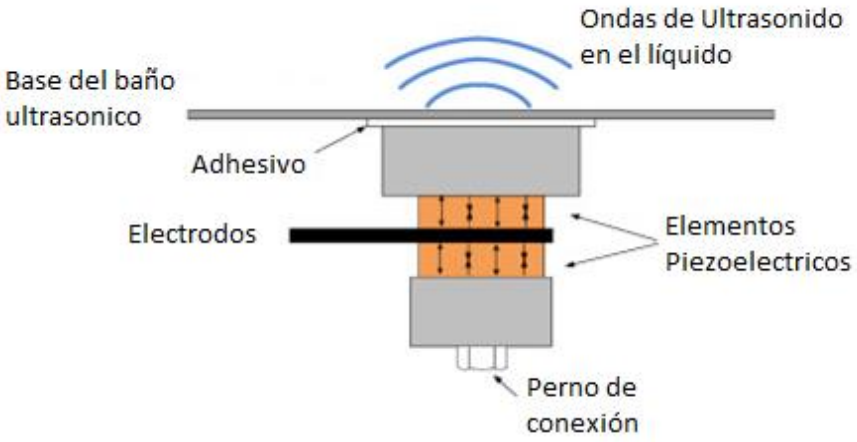
En la literatura se ha reportado estudios como los de Saini & Keum (2018), donde informan los métodos de extracción empleados recientemente para obtención de carotenoides; dentro de estos se encuentran los de tipo tradicionales o convencionales como la extracción líquida atmosférica con maceración y soxhlet, que proporcionan un buen rendimiento de carotenoides, sin embargo, se pueden enumerar varias desventajas que limitan su aplicación en alimentos: Requieren grandes cantidades de solventes de naturaleza tóxica, largos tiempos de extracción y altas temperaturas lo cual aumenta los costos de operación, la degradación térmica y la isomerización *cis-trans* de los carotenoides. También en este mismo estudio, se ilustran otros métodos de extracción de carotenoides llamados emergentes, entre ellos, extracción asistida por microondas, extracción por campo eléctrico pulsado, extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida por enzimas, extracción asistida por ultrasonido, de los cuales se destacan virtudes importantes como tiempos cortos, mayor permeabilidad celular y penetración del solvente, volúmenes bajos de solvente y uso de solventes amigables con el medio ambiente. El objetivo de este trabajo de investigación es realizar la extracción de carotenoides presentes en epicarpio de mandarina mediante la extracción asistida por ultrasonido, por tal motivo, se profundiza conceptualmente en esta tecnología de extracción.

5.3.1 Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es una tecnología potencialmente emergente que puede acelerar la transferencia de calor y masa (Jiang et al. 2017). El ultrasonido se define como ondas sonoras con una frecuencia que excede el límite de audición del oído humano (Welti-Chanes et al, 2017). Las ondas sonoras se dividen en tres categorías que abarcan diferentes rangos de frecuencia: 1. Ondas audibles (10Hz-20 kHz); 2. Ondas infrasónicas, tienen frecuencias por debajo del rango audible (< 10Hz); y 3. Ondas

ultrasónicas, que tiene frecuencias superiores al rango audible (>10kHz hasta 10MHz) (Tiwari, 2015). La generación de estas ondas es impulsada por la transformación de la energía eléctrica en energía mecánica y la formación de oscilaciones mecánicas (Welti-Chanes et al, 2017). El sistema ultrasónico consta de tres partes esenciales: 1. Generador, que transforma la electricidad en la corriente alterna deseada a frecuencia ultrasónica para accionar el conjunto del transductor; 2. Transductor, dispositivo clave que convierte la corriente en vibraciones mecánicas; y 3. Sistema de suministro, sistema de entrega que transporta la vibración al reactor ultrasónico. (Tao & Sun, 2015). Las vibraciones del sonido generalmente son generadas por un transductor piezoeléctrico Langevin, que consiste en dos elementos cerámicos que cambian su tamaño de manera precisa y reproducible en respuesta a un campo eléctrico (Kentish, 2017) (figura 5-4).

Figura 5-4: Diagrama del funcionamiento de un transductor ultrasónico Langevin.



Fuente: (Kentish, 2017)

La principal fuerza impulsora de los efectos de extracción de la sonicación se basa en la cavitación acústica; cuando las ondas ultrasónicas se propagan a través de cualquier medio, viajan como cualquier onda de sonido, lo que resulta en una serie de compresión y rarefacción en las moléculas del medio, conduciendo a la generación, evolución y en última instancia, el colapso de burbujas en el medio liquido (Rastogi, 2011; Tiwari, 2015). La

capacidad del ultrasonido para causar la cavitación depende de sus características (frecuencia e intensidad), propiedades del medio (viscosidad y tensión superficial) y condiciones ambientales (temperatura y presión) (Tiwari, 2015).

El procesamiento de ultrasonido se puede dividir en dos grupos según la frecuencia: baja intensidad, con baja energía y frecuencia superior a 100 kHz, y alta intensidad, con alta energía y baja frecuencia entre 20 y 100 kHz (Welti-Chanes et al. 2017). La frecuencia de la onda acústica generada se define como el número de ciclos por segundo (f) y está determinada por el campo eléctrico aplicado; las más comunes que se aplican en el procesamiento de alimentos se encuentran en el rango entre 20 y 40 kHz (Kentish, 2017).

El ultrasonido de baja intensidad se usa como una herramienta de escaneo de imágenes en el campo de la medicina y como método no destructivo para analizar propiedades fisicoquímicas como la composición, estructura y estado físico en los alimentos, por otro lado, el ultrasonido de alta intensidad se usa para alterar las propiedades del material como romper estructuras celulares y acelerar reacciones químicas a través de la generación de una inmensa presión, cizallamiento y gradiente de temperatura en el medio a través del cual se propagan, lo que lleva a la intensificación de los procesos basados en la transferencia de calor y masa debido a la hidratación y la hinchazón de la matriz con un agrandamiento de poros que aumenta la difusión del disolvente en la matriz (Rastogi, 2011; Tiwari, 2015; Welti-Chanes et al. 2017).

La cantidad de energía acústica aplicada al sistema es el criterio más importante del uso de la potencia de ultrasonido en la extracción y se caracteriza por la potencia acústica (W), la intensidad acústica (UI) (W/m^2), la densidad de energía acústica (AED) (W/cm^3 o W/ml). La determinación de la energía ultrasónica utilizada en el proceso de extracción es difícil de medir porque ésta se absorbe, refleja o se utiliza en la cavitación. La medición de la energía se puede determinar por los métodos: 1. Dosimetría química; o 2. Calorimetría (Rastogi, 2011; Tiwari, 2015).

La dosimetría química implica la medición de $H_2 O_2$, que se produce durante la sonicación como resultado de la cavitación, el colapso de una burbuja de cavitación produce energía suficiente para romper H_2O para producir los radicales H^+ y OH^-; Estos radicales de corta vida son reactivos y producen peróxido de hidrógeno, que se puede determinar utilizando el método de dosimetría de yodo; Por otra parte, el método calorimétrico se basa en la

suposición de que el sistema no tiene pérdidas de calor y que hay una estimación aproximada de la energía introducida en el sistema de extracción, la potencia (P), intensidad ultrasónica (IU) y la densidad de energía acústica (AED) se puede determinar con ayuda de las siguientes ecuaciones:

$$P = mC_p \left[\frac{dT}{dt}\right]_{t=0} \tag{5.1}$$

$$UI = \frac{P}{A} \tag{5.2}$$

$$AED = \frac{P}{V} \tag{5.3}$$

Donde $[\frac{dT}{dt}]$ es la tasa inicial de cambio de temperatura a lo largo del tiempo $°C^{-1}$ y puede determinarse ajustando los datos de cambio de temperatura versus tiempo, C_p es el calor especifico del medio (kJ kg -1 °C-1), P es la potencia ultrasónica (W), A es el área (m^2), m es la masa de la muestra (Kg) y V es el volumen de la muestra (ml) (Tiwari, 2015).

La velocidad ultrasónica es el parámetro principal en los sistemas de detección ultrasónica y es sensible a la disposición molecular y las interacciones intermoleculares, cada material tiene un valor único y este depende de su forma y estructura geométrica; el valor teórico de la velocidad ultrasónica se puede obtener de las siguientes ecuaciones (5.4 y 5.5) que se determina por las propiedades elásticas y la densidad del material:

$$V_L = \sqrt{\frac{E(1-v)}{\rho(1+v)(1-2v)}} \tag{5.4}$$

$$V_s = \sqrt{\frac{E}{2\rho(1-v)}} = \sqrt{\frac{G}{\rho}} \tag{5.5}$$

Donde V_L y V_S son las velocidades de onda longitudinal y de corte respectivamente, E es el modulo de Young, v es la relación de Poisson, Ges el modulo de corte y ρ es la densidad (Soltani Firouz, Farahmandi, & Hosseinpour, 2019).

Cuando una onda ultrasónica se propaga a través de un material, se producirá una pérdida de energía en la onda ultrasónica y a esto se le llama atenuación; la atenuación (α) se declara como una reducción de la amplitud de onda, factores como la dispersión del haz del ultrasonido, la absorción de energía, dispersión, la no linealidad, la transmisión en las

interfaces, la dispersión por inclusiones y defectos afecta la amplitud y forma de la onda ultrasónica, y esta se puede determinar con ayuda de la siguiente ecuación:

$$A = A_0 e^{-\propto x} \quad (5.6)$$

Donde A es la amplitud de la onda a la distancia de propagación (x) y A_o es la amplitud inicial (Soltani Firouz et al. 2019).

El ultrasonido ofrece una ventaja neta en términos de productividad, rendimiento y selectividad, con un mejor tiempo de procesamiento, mejora la calidad, reduce riesgos químicos y físicos y es amigable con el medio ambiente. Las aplicaciones de ultrasonido se basan en tres métodos diferentes: aplicación directa al producto, acoplamiento con el dispositivo y sumersión en baño ultrasónico (Farid at al., 2011).

La estructura de un carotenoide puede verse afectada o interrumpida durante las diferentes etapas del proceso de extracción debido a factores como la temperatura, disponibilidad de oxígeno, exposición a la luz, actividad de agua, acidez, presencia de metales y la estructura misma. Diferentes estudios de estabilidad y actividad antioxidante predicen que para los procesos industriales el uso del ultrasonido en el proceso de extracción puede tener un impacto significativo en la estabilidad del extracto (Martins & de Rosso, 2016).

5.4 Estabilidad térmica de los carotenoides

Es muy importante conocer el comportamiento de un colorante natural al ser expuesto a la temperatura; pues éste se va degradando, la situación ideal es que se mantengan estables ante los cambios de temperatura. Al adicionar colorantes de este tipo a los alimentos se requiere un conocimiento detallado de su estabilidad frente a los posibles procesos de degradación (Giménez, Fernández-López, Angosto, & Obón, 2015) para predecir los daños de estos compuestos durante los tratamientos térmicos (Dhuique-Mayer et al. 2007). Los modelos cinéticos de degradación, incluido el orden de reacción, la constante de velocidad y la energía de activación, es crucial para predecir las pérdidas de carotenoides durante el proceso de horneado de los productos de panificación.

5.4.1 Modelado cinético

Los modelos cinéticos describen la velocidad de una reacción de tal manera que se puede predecir y controlar una reacción; En la mayoría de los casos la degradación de un compuesto se puede expresar mediante la siguiente ecuación (5.7) (Colle et al. 2016):

$$-\frac{d[C]}{dt} = k[C]^n \tag{5.7}$$

Donde C es el compuesto considerado en el momento del tratamiento t, k es la constante de la velocidad de reacciones y n es el orden de la reacción. En alimentos, los cambios generalmente se modelan mediante reacciones de cero a segundo orden (Van Boekel, 2008). Se ha reportado que la degradación de los nutrientes y pigmentos naturales como los carotenoides bajo calentamiento isotérmico sigue una cinética de primer orden (Colle et al. 2016; Dhuique-Mayer et al. 2007a; Giménez et al. 2015). Las siguientes expresiones matemáticas representan las cinéticas de orden cero (5.8), primer orden (5.9) y segundo orden (5.10):

$$C_t = C_0 - kt \tag{5.8}$$

$$C_t = C_0 e^{(-kt)} \tag{5.9}$$

$$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + kt \tag{5.10}$$

Donde C_t y C_0 son la concentración de carotenoides (µg/g) en el momento 0 y t, k es la constante de degradación (min^{-1}) y t es el tiempo de horneado (min).

5.4.2 Dependencia de la temperatura de la constante de velocidad

La dependencia de la temperatura de la constante de velocidad de las reacciones de degradación $k(T)$, se ha descrito mediante varios modelos matemáticos, con mayor frecuencia mediante la ecuación de Arrhenius (Peleg, 2019), la ley de Arrhenius se derivó empíricamente para describir la dependencia de la temperatura de reacciones químicas simples (Van Boekel, 2008). La dependencia de la temperatura de una reacción proporciona información útil para diseñar y determinar las condiciones de tiempo y

temperatura durante procesos como la pasteurización y esterilización (Colle et al. 2016). La ecuación de Arrhenius se describe en la siguiente ecuación (5.11):

$$k = k_0 e^{(-\frac{E_a}{RT})} \quad (5.11)$$

Donde k_0 es un factor llamado pre-exponencial (tiempo^{-1}), E_a es la energía de activación (kJ / mol), R es la constante de gas universal (8.314 kJ mol^{-1} K) y T es la temperatura absoluta (K).

La energía de activación (E_a) se puede ver como la barrera de energía que las moléculas necesitan atravesar para poder reaccionar; la proporción de moléculas capaces de hacer eso aumenta con la temperatura, lo que explica cualitativamente el efecto de la temperatura (Van Boekel, 2008). La energía de activación (E_a) se determina a partir de la regresión lineal de ln (K) vs 1/t.

5.4.3 Parámetros cinéticos

Existen otros parámetros cinéticos que permiten describir cambios en los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento, y estos están relacionados con los parámetros fundamentales descritos anteriormente, descritos previamente por Van Boekel, (2008) y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020):

- **Parámetro de reducción decimal D:** Es el tiempo necesario para reducir una concentración en un factor de 10, no es más que una constante de velocidad inversa, y se determina mediante la ecuación (5.12).

$$D = \frac{ln10}{k} \quad (5.12)$$

- **Parámetros t $_{0,5}$:** Este parámetro determina el tiempo que se requiere para que una concentración se reduzca a la mitad de su valor inicial y se puede calcular con la ecuación (5,13).

$$t_{0,5} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (5.13)$$

- **Parámetro Q_{10}:** Describe la dependencia de la temperatura de una reacción como el factor por el cual la velocidad de reacción cambia cuando la temperatura aumenta en 10 °C (5.14).

$$Q_{10} = \frac{k_2}{k_1}^{\frac{10}{(T_2 - T_1)}} \quad (5.14)$$

Donde k_2 y k_1 son las constantes de velocidad (min^{-1}) a temperaturas T_2 y T_1.

- **Parámetro Z:** Es un parámetro dependiente de la temperatura y se usa con frecuencia en bacteriología para describir la inactivación de las células. Z expresa el aumento de la temperatura que producirá un aumento en la tasa por un factor de 10 (5.15).

$$Z = 10 \frac{\ln 10}{lnQ_{10}} \quad (5.15)$$

- **Parámetros termodinámicos**: La determinación de los parámetros termodinámicos en la degradación de los carotenoides incluye: 1. Energía de activación (E_a), descrita en la ecuación (5.11); 2. Entalpia de activación (ΔH), que representa la energía mínima requerida para que el reactante haga que se produzca la reacción y está relacionada con la fuerza de los enlaces químicos que se rompen y se producen durante la misma (Martynenko & Chen, 2016); 3. Energía libre de Gibbs (G), se define como la diferencia entre las energías de los reactivos y el estado activado (Mercali et al. 2013), este parámetro es una medida que indica la espontaneidad del proceso; y 4. Entropía de activación (ΔS), que está asociado con la cantidad de moléculas con energía adecuada para poder reaccionar Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020). Estos parámetros se determinan con las

ecuaciones (5.16), (5.17) y (5.18) respectivamente, descritas previamente por Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020):

$$\Delta H = E_a - R * T \quad (5.16)$$

$$\Delta G = -R * T * ln\left(k * \frac{h}{k_b} * T\right) \quad (5.17)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (5.18)$$

Donde k_0 corresponde a la frecuencia (min^{-1}), E_a es la energía de activación de Arrhenius (kJ mol^{-1}), R es la constante universal de gases (8,314 mol^{-1} K), T es la temperatura absoluta (K), h es la constante de Plank (6,6262 x 10^{-23} J k^{-1}) y k_B es la constante de Boltzmann (1,3806x10^{-23} J/K).

5.5 Diseño Plackett-Burman

El diseño Plackett-Burman es conocido como “diseños de matriz de Hadamard” y son diseños factoriales con dos niveles desarrollados por Plackett y Burman y es ampliamente aplicado para detectar las variables significativas de un proceso (Gündołdu et al. 2016; Sharif et al. 2014). Este diseño permite examinar al máximo $f = N - 1$ factores en N experimentos, donde N es un múltiplo de cuatro ($N = 8,12,16,20$ ...); cuando f excede el número de factores reales a examinar, las columnas restantes del diseño Plackett-Burman se definen como columnas de factor ficticio, para las cuales un cambio entre los niveles -1 y +1 no tienen significado fisicoquímico (Dejaegher & Vander Heyden, 2011). Por lo general el modelo polinomial de primer orden descrita en la ecuación (5.19) se ajusta al diseño de Plackett-Burman para estimar los efectos de varios factores (Sharif et al. 2014).

$$y = \beta_0 \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \varepsilon \quad (5.19)$$

Donde k es el numero de varaibles, β_0 es el termino constante, β_i representa los coeficientes de los parámetros lineales, x_i representa las variables y ε es el residuo asociado a los experimentos (Bezerra et al. 2008).

El diseño de Plackett-Burman se usa ampliamente en varias áreas científicas porque presenta varias ventajas; por ejemplo, tiene "propiedades de proyección ocultas", lo que significa que tomar las proyecciones de un diseño puede dar como resultado un resultado experimental deseable que no es inmediatamente aparente; Una de las propiedades de proyección ocultas de estos diseños es que los diseños de resolución V pueden construirse a partir de las proyecciones de sus factores (Gündoɨdu et al. 2016).

5.6 Metodología de superficie de respuesta

La metodología de superficie de respuesta (RSM) es una técnica de optimización basada en diseños factoriales introducidos por Box y sus colaboradores en la década de 1950. Desde entonces, RSM se ha utilizado con gran éxito para modelar y optimizar diversos procesos industriales (Neto, Scarminio, & Bruns, 2005). La metodología de superficie de respuesta es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas que se basan en el ajuste de modelos empíricos a los datos experimentales obtenidos en relación con el diseño experimental. Con este objetivo, se emplean funciones polinómicas lineales o cuadradas representadas en las ecuaciones (5.19) y (5.20) respectivamente, para describir el sistema estudiado y en consecuencia, para explorar (modelar y desplazar) las condiciones experimentales las veces necesarias con el objetivo de descubrir una región optima en la superficie de respuesta bajo investigación (Bezerra et al. 2008; Neto et al. 2005).

$$y = \beta_0 \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} {x_i}^2 + \sum_{1 \le i \le j}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \qquad (5.20)$$

Donde k es el número de variables β_0 es el termino constante, β_i representa los coeficientes de los parámetros lineales, β_{ij} representa los coeficientes de los parámetros de interacción, β_{ii} representa los coeficientes del parámetro cuadrático, x_i representa las variables y ε es el residuo asociado a los experimentos (Bezerra et al. 2008).

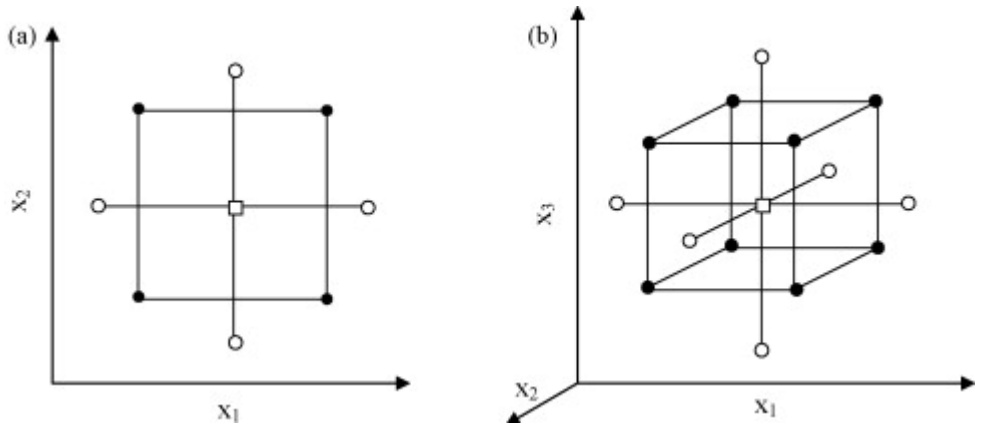
Durante el desarrollo de la optimización de un modelo analítico, a menudo se desarrollan algunos pasos (Bezerra et al. 2008; Ferreira et al. 2018): 1. Selección de variables independientes de efectos importantes en el sistema estudiado; 2. Definición del dominio experimental de los factores de acuerdo a los objetivos del estudio; 3. Evaluación preliminar de los factores en el proceso con el fin de identificar los factores estadísticamente significativos del proceso para luego modelarse utilizando RSM; 4.

Aplicación de RSM con los factores estadísticamente significativos del proceso; 5. Tratamiento matemático-estadístico de los datos experimentales obtenidos a través del ajuste de una función polinómica; 6. Evaluación de la aptitud del modelo; 7. Obtener valores óptimos para cada variable estudiada y ; 8. Validación del modelo obtenido durante el desarrollo de los diseños experimentales, esta validación se realiza comparando los datos experimentales con los valores pronosticados por el modelo.

Algunas metodologías de superficie de respuesta (RSM) descritas por Ferreira et al. (2018), Bezerra et al. (2008) y Ferreira et al.(2007) son:

- **Diseño central compuesto (CCD):** Es un RSM que se ha utilizado para modelar procesos a partir de dos o más factores, generalmente con cinco niveles; consta de: 1. Un diseño factorial completo o factorial fraccionado; 2. Un diseño adicional, a menudo un diseño de estrella en el que los puntos experimentales están a una distancia $\propto$ de su centro; 3. Un punto central. (Ver figura 5-5)

Figura 5-5: Diseños centrales compuestos para la optimización de: (a) dos variables ($\propto = 1{,}41$) y (b) tres variables $\propto = 1{,}68$). (●) Puntos de diseño factorial, (○) puntos axiales y (□) punto central.

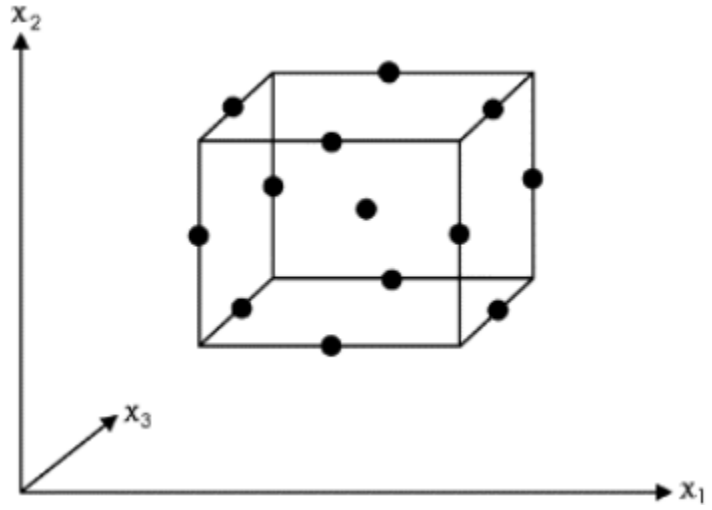


Fuente: (Bezerra et al. 2008)

Los diseños centrales compuestos presentan las siguientes características: 1. Requieren un numero de experimentos de acuerdo con $N = k^2 + 2k + C_p$, donde k es el número de factores y C_p es el número de réplica del punto central; 2. Los valores de $\propto$ dependen del número de variables y pueden calcularse mediante $\propto = 2^{(k-p)/4}$. Para dos, tres y cuatro variables, son 1,41, 1,68 y 2,00 respectivamente; 3. Todos los factores se estudian en cinco niveles (- α, -1, 0, +1, + α).

- **Diseño Box-Behnken:** Es un RMS que puede emplearse para modelar procesos de tres o más factores. Son una clase de diseños rotativos o casi rotativos de segundo orden basados en diseños factoriales incompletos de tres niveles. En los diseños de Box-Behnken, los puntos experimentales se ubican en una hiperesfera equidistante del punto central, sus características principales son: 1. Requieren un número de experimentos de acuerdo con $N = 2k\,(k-1) + C_p$, donde k es el número de factores y C_p es el número de puntos centrales; 2. Todos los niveles de factores deben ajustarse solo en tres niveles (-1, 0, +1) con intervalos igualmente espaciados entre estos niveles.

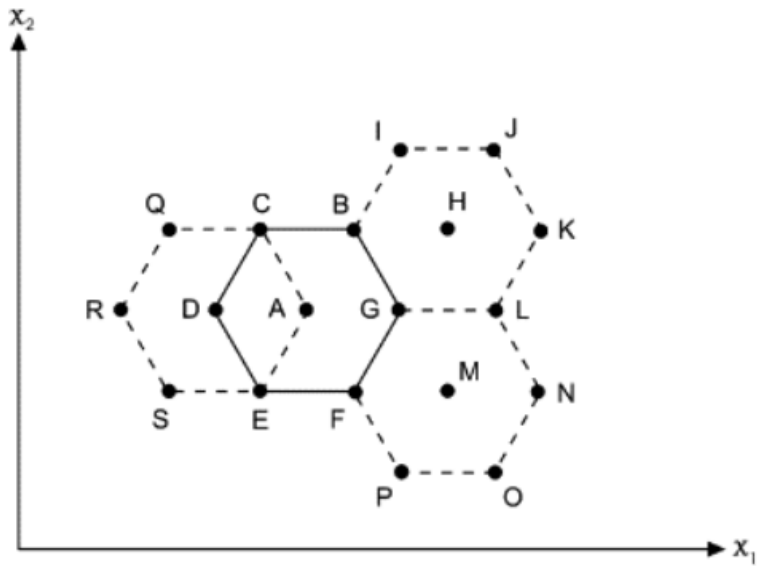
Figura 5-6: Puntos que representan las corridas experimentales de un diseño Box-Behnken de tres factores.



Fuente: Ferreira et al.(2007)

- **Diseño de Doehlert:** Es un RSM que permite el modelado del proceso que requiere un bajo número de experimentos. Este diseño describe un dominio circular para dos variables, esférico para tres variables e hiperesférico para más de tres variables, que acentúan la uniformidad de las variables estudiadas en el dominio experimental. Los diseños de Doehlert presentan las siguientes características: 1. Requieren un número de experimentos de acuerdo con $N = k^2 + k + C_p$, donde k es el número de factor y C_p es el número de réplica del punto central; 2. Cada variable se estudia en un número diferente de niveles; 3. Los intervalos entre sus niveles presentan una distribución uniforme; 4. El desplazamiento de la matriz experimental a otra región experimental se puede lograr utilizando puntos adyacentes anteriores.

Figura 5-7: Diseño hexagonal de dos factores de Doehlert con tres posibles desplazamientos en el espacio experimental.



Fuente: Ferreira et al.(2007)

- **Diseño factorial de tres niveles:** Este diseño tiene una baja aplicabilidad como RSM, ya que se requiere una gran cantidad de experimentos cuando el número de factores es superior a 2 ($N = 3^k$ donde N es el número de experimentos y k es el número de factores), por lo que pierde su eficiencia en el modelo de funciones cuadráticas.

6. ESTADO DEL ARTE

El proceso de extracción de carotenoides se realiza con la ayuda de diferentes tecnologías entre las que se pueden destacar: Extracción Soxhlet, usando microondas, con adición de solventes, asistencia por ultrasonido etc. La extracción asistida por ultrasonido viene siendo frecuentemente utilizada en el mundo para carotenoides provenientes de diferentes frutas como se observa en el trabajo realizado por Murador et al. (2019) donde realizaron la extracción de pigmentos de la piel de naranja usando asistencia por ultrasonido combinado con líquidos iónicos (ILs) con el fin de dar valor agregado a un subproducto del proceso de jugos de naranja en Brasil como el epicarpio. Realizaron pruebas usando 1-n-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ([BMIM][BF4]) y 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride [BMIM][Cl] como solventes en lugar de la acetona, la extracción fue llevada a cabo usando una mezcla de 5 g de muestra de piel de naranja seca congelada con una fracción de líquido iónico con etanol como cosolvente en ausencia de luz, a esta muestra se le hizo un tratamiento con ultrasonido con una potencia de 200W a 20 kHz (Unique, model DES500, Brazil) y 80% de amplitud por 5 min. Los ILs fueron diluidos en etanol (1:2), mezclados con una muestra de epicarpio de naranja seca y congelada con una relación solido liquido 1:3. Como resultado encontraron que la extracción de carotenoides usando líquidos iónicos asistida por ultrasonido, logro obtener una cantidad más alta de carotenoides de 2,3 y 2,9 veces respectivamente comparados con la extracción con acetona.

Shahram & Dinani, (2019) hicieron extracción de pigmento β-caroteno usando residuos del procesamiento de naranja utilizando un proceso con tratamiento enzimático asistido con ultrasonido y con Etanol como solvente, la condición optima de la extracción de pigmento

β-caroteno se estimó con una concentración de pectinasa de 0,40% (p/p), tiempo ultrasónico de 115,55 min y pH de 5,11. En este estudio se pudo determinar un mayor rendimiento de este método frente al tradicional de maceración con solvente Etanol.

Sharmila et al. (2019) realizaron la extracción de pigmentos amarillos usando como materia prima pétalos de la flor Tecoma castanifolia mediante un proceso de extracción por ultrasonido con metanol como solvente. Se optimizaron los parámetros de extracción: masa de la flor, concentración del solvente, tiempo y potencia del ultrasonido usando el método de superficie de respuesta, obteniendo como resultado 2 g, 100%, 15 min, y 30 W respectivamente con una máxima respuesta de: Absorbancia de pigmento OD (3,46), compuestos fenólicos totales TPC (246,6 mg/g) y actividad antioxidante AA (55,7%).

En Colombia, se han realizado varios estudios del potencial que tienen diferentes residuos de fuentes vegetales y frutales, con el fin de aprovechar los compuestos bio-activos presentes. Se ha investigado acerca de los aportes como valor nutricional, sensorial y su empleo como sustitutos naturales de aditivos alimentarios en productos industrializados destinados al consumo humano.

Alzate et al. (2017) evaluaron el potencial de restos obtenidos en la Central Mayorista de Antioquia, a partir de: pimiento (*Capsicum annuum*), zanahoria (*Daucus carota*), tomate (*Lycopersicum esculentum*), repollo (*Brassica oleracea L*.), lechuga (*Lactuca sativa*), calabaza (*Cucurbita máxima*), papaya (*Carica papaya L*.), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), naranja (*Citrus sinensis*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) con el fin de determinar que residuos tienen un mayor potencial para ser usados como materia prima en la elaboración de alimentos funcionales. Los autores encontraron que los de pimiento, zanahoria, tomate, repollo y lechuga tienen la mejor composición en sustancias bio-activas y capacidad antioxidante. Esto se determinó a través de los análisis de carotenoides, poli fenoles, capacidad antioxidante y determinación específica de caroteno por cromatografía liquida de alta eficacia.

Martínez-Girón et al. (2017) evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la harina de cáscara de chontaduro con el fin de determinar la presencia de compuestos bio-activos. Los autores encontraron que esta harina presenta concentración de fenoles totales (23,40±1,30 mg ácido gálico/100 g), actividad antioxidante (33,10 %±3,20) y carotenoides

totales (59,31±1,61 mg β-caroteno/100 g), también un alto nivel de retención de los mismos (85 %) y compuestos fenólicos (94 %). Los autores concluyeron que la harina obtenida de cáscara de chontaduro es un subproducto adecuado como alternativa agroalimentaria por sus atributos de color ya que no presentaron diferencias significativas en la variación del color después de seis meses de almacenamiento y su capacidad antioxidante.

Ordóñez-Santos et al. (2016) evaluaron la estabilidad del color y la aceptación sensorial del pan común enriquecido con harina de cáscara de chontaduro en proporciones de 2,5-10% (w/w). Realizaron pruebas de carotenoides totales, test de color escala $CIE_{L^*a^*b^*}$ y características sensoriales del pan común enriquecido con esta harina. Los autores encontraron que la incorporación de la harina de cáscara de chontaduro en el pan común puede ser una alternativa sustitutiva del colorante artificial tartrazina en la formulación de este producto ya que los estudios sobre evaluaciones sensoriales mostraron que los panes incorporados con harina de cáscara de chontaduro hasta un nivel del 5% (w / w) daban como resultado buena aceptabilidad y un aumento en los niveles de carotenoides contenidos en el pan.

Pinzón-Zárate et al. (2015) evaluaron los parámetros de color luminosidad (L), coordenadas a* y b*, croma (C) y tono (h) en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt adicionadas con extracto oleoso de residuos conformados por epicarpio y restos de mesocarpio de chontaduro (*Bactris Gasipaes*), con el fin de reducir o sustituir el uso de nitritos en la formulación. Los autores encontraron que se puede reducir el contenido de nitritos hasta un 20% utilizando 19 ml de extracto oleoso de residuos de chontaduro por cada kilogramo de masa cárnica, esto lo determinaron con la aceptabilidad de los consumidores considerando solo la coordenada b* de los parámetros de color. Los autores concluyeron que los aditivos naturales disueltos en aceites vegetales representan una alternativa para reducir el uso de nitritos en matrices alimenticias tipo cárnicas. La aplicación de este extracto oleoso es una alternativa favorable pero no ideal para dicha sustitución ya que se presentaron alteraciones significativas en los parámetros del color por no lograr obtener la coloración rojiza estándar comercial en comparación con las salchichas comerciales.

Navarrete et al. (2010) realizaron la extracción y caracterización del aceite esencial obtenido a partir de residuos de mandarina provenientes de desechos agroindustriales de diferentes compañías procesadoras de frutas localizadas en la ciudad de Medellín,

mediante el método de arrastre con vapor. Los residuos de mandarina no se encontraban homogenizados en cuanto a: Variedad, estado de madurez, origen y condiciones físicas. Los autores evaluaron los efectos de la presión de vapor, el espesor y el número de capas del material vegetal, sobre el rendimiento y la calidad del aceite esencial. Los autores lograron incrementar significativamente el rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial de residuos de mandarina pasando del 0,07% al 0,29%. Las condiciones óptimas de la extracción son 3 capas de material vegetal, un espesor de capa de 12 cm y una presión de vapor de agua de 1,2 psi.

A nivel mundial, otros autores han realizado estudios en el aprovechamiento de compuestos bio-activos como los carotenoides presentes en residuos de fuentes vegetales y frutales y su aplicación en diferentes matrices alimenticias.

Porto Dalla Costa et al. (2016) evaluaron la adición de harina de zanahoria obtenida a partir de residuos (cáscaras virutas y pedúnculos) de su procesamiento en la elaboración de pastas secas preparadas exclusivamente con trigo común (*Triticum aestivum)*, con el fin de aportar valor nutricional, sensorial y reemplazar el β-caroteno comercial. Los residuos de zanahoria se deshidrataron en un horno con circulación de aire a 65 ºC durante 10 h, se hizo una reducción de tamaño en molino y se tamizaron hasta obtener partículas de tamaños menores o iguales a 125 µm. La harina se envasó al vacío y se almacenó en la oscuridad a temperatura ambiente. La pasta se deshidrató hasta alcanzar una humedad del 12 %, en una secadora durante 2 h a una temperatura de 55 ºC y humedad relativa de 65%.

En este estudio se compararon muestras preparadas con harina de zanahoria al 10% y 20% con muestras preparadas con β-caroteno comercial y se encontró que la aplicación mejoró la retención de color naranja después del proceso de cocción, y en muestras con del 20% de harina hubo un incremento de los niveles de carotenoides 307%, capacidad antioxidante total 132% y fibras totales 608%, lo que indica su potencial uso en la fabricación de pastas secas y otros productos como los de panificación.

Pathak et al. (2016) caracterizaron las propiedades fisicoquímicas del pan de trigo integral, después de la incorporación de harina de cáscara de mango en estado de madurez comercial al 0,1, 3 y 5% y la evaluación del efecto sobre las propiedades reológicas, texturales, color, antioxidantes y sensoriales. Los autores encontraron que: con el uso de

la harina de cáscara de mango en estado de madurez comercial elevaron los niveles de aroma, color de la miga, sabor afrutado y un aumento en las propiedades antioxidantes en el pan. Los autores también reportan una aceptación sensorial y concluyeron que la harina obtenida a partir de cáscara de mango puede considerarse como un ingrediente funcional debido al incremento en las propiedades antioxidantes y compuestos fenólicos.

Se encuentran revisiones sobre la caracterización y conversión de los residuos cítricos agroindustriales en productos de valor agregado, extracción y evaluación de la estabilidad de carotenoides obtenidos a partir de residuos cítricos agroindustriales, también sobre las técnicas de encapsulado.

Sharma et al. (2017) realizaron una revisión sobre la conversión de residuos cítricos en productos de valor agregado con un enfoque económico y amigable con el medio ambiente. Los autores revisaron las propiedades biológicas importantes de los compuestos bio-activos presentes en los residuos cítricos, la composición aproximada del subproducto cítrico y realizaron una caracterización de estos compuestos mostrando una amplia lista de los métodos analíticos y de extracción más utilizados para la determinación de diferentes fitoquímicos presentes en los residuos cítricos.

Dentro de los métodos los autores mencionan:

Extracción asistida por enzimas (contenido fenólico total); hidrólisis con enzimas celulasa y pectinasa (azucares monómeros); explosión de vapor y fermentación adicional (bioetanol, ácido galacturónico y D-limoneno); extracción de metanol y cromatografía liquida de alta eficacia (naringina, hesperidina, didimina, tangeretin y nobiletin); extracción de agua subcrítica (contenido total de fenol, flavonas polimetoxiladas); extracción asistida por ultrasonido (compuestos fenólicos); hidrodestilación tradicional; prensado en frio y destilación acelerada por microondas con cromatografía de gases-espectrometría de masas (aceites esenciales); método de cromatografía liquida de alta eficacia del método de optimización (diosmin, hesperidina y naringin); detector de matriz de cromatografía líquida y cromatografía líquida-espectrometría de masas (flavonoides isoquercitrina); hidrodifusión por microondas y gravedad (aceite esencial); extracción a base de agua como la extracción a presión manual; extracción de microondas; extracción combinada de presión manual y microondas (pectinas). Los autores identificaron que las técnicas de

extracción que consumen menos solvente y energía son los fluidos supercríticos, ultrasonido, proceso controlado de presión y extracción de agua subcrítica

En esta revisión se determinó que en general, los cítricos contienen cantidades considerables de lípidos (ácido oleico, linoleico, linoleico, palmítico, esteárico, glicerol y apitosterol), azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) y ácidos (principalmente cítrico y málico). También que contienen carbohidratos tartáricos, benzoicos, oxálicos y succínicos, celulosa, pectina, enzimas (pectinesterasa, fosfatasa, peroxidasa), flavonoides (hesperidina, naringina), limonina, isolimonina, aceite de cáscara (D-limoneno), componentes volátiles (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, hidrocarburos, ácidos), pigmentos (carotenos, xantofilas), vitaminas (ácido ascórbico, complejo de vitamina B y carotenoides) y minerales (principalmente calcio y potasio).

Ruiz-Armenta et al. (2017) evaluaron la estabilidad del contenido de carotenoides, las propiedades físicas y sensoriales de los bocadillos de tercera generación enriquecidos con residuos compuestos por cáscara y paredes del segmento de naranjita (*Citrus mitis*) elaborados a través del proceso de extrusión. Los autores estudiaron el efecto de la temperatura de extrusión (89,8-140,2 ºC), contenido de humedad (21,10 - 32,89%) y contenido de bagazo deshidratado de naranjita (1,12 – 11,88%) en las propiedades físicas y sensoriales de los bocadillos. Los autores encontraron que las condiciones óptimas de procesamiento donde se consiguió una buena aceptabilidad sensorial (apariencia, sabor y textura) y contenidos importantes de carotenoides en los bocadillos de tercera generación fueron: temperatura 125ºC, contenido de humedad 23% y contenido de bagazo deshidratado de naranjita 8,03%.

Tovar-Jiménez et al. (2015) evaluaron el efecto de la temperatura y contenido de humedad en la elaboración de un producto tipo snack enriquecido con harina de vesícula de naranja por el proceso de extrusión. Midieron el índice de expansión, la densidad aparente, la fuerza de penetración, el contenido de carotenoides y la fibra dietética para esta merienda de tercera generación y se estimaron las condiciones óptimas de producción. Los autores encontraron que la temperatura afecta la expansión, la densidad aparente y la fuerza de penetración, mientras que el contenido de humedad afecta el contenido de carotenoides. También encontraron que las condiciones óptimas de procesamiento: temperatura: 128-130 °C; contenido de humedad: 22 - 24%. La evaluación de estos parámetros se realizó

aplicando la metodología de superficie de respuesta aplicando un diseño experimental central giratorio compuesto.

La cinética de pérdida de vitaminas, pigmentos y otros compuestos de interés durante el procesamiento térmico y el almacenamiento se ha investigado a fondo en las últimas décadas. Se ha realizado diferentes estudios sobre la cinética de degradación de pigmentos naturales como los carotenoides, algunos estudios se han centrado en la degradación de los carotenoides en sistemas alimentarios deshidratados, entre estos:

Zhang et al. (2019) compararon el efecto de dos tipos de tratamiento en la degradación de licopeno extraido de jugo de tomate; ultrasonido y homogenización a alta presion HPH. Se encontró que con una presión de 200 bar el contenido de licopeno fue el maximo (777 ug/100 g) mientras que al aumentar la presión a 500 bar se observó una alta degradación de licopeno equivalente a un 48%. Por otra parte el tratamiento realizado con ultrasonido aumentó la cantidad de licopeno a 921 ug/100 g a una potencia de 400 W. Aunque los dos métodos permiten liberar carotenoides de la célula se puede observar que al final del tratamiento HPH se pudo encontrar un 64,8% del total de licopenos y que al aumentar la presión este porcentaje se ve disminuido. El método de ultrasonido tuvo como resultado una cantidad de 65,43% del total de licopenos pero como este proceso de extracción es más eficiente se puede decir que la cantidad de licopenos es más alta al final del tratamiento con ultrasonido.

Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020) estudiaron la influencia de la temperatura en la degradación de los carotenoides, vitamina C y provitamina A presentes en el jugo de tomate de árbol a los 70, 80 y 90 °C. Como resultado observaron que todos los componentes fitoquímicos evaluados se encuentran dentro de un modelo cinético de primer orden con las siguientes energías de activación: α-caroteno (69,75 kJ/mol), β-caroteno (59.50 kJ/mol), provitamina A (51,67 kJ/mol), zeaxantina (43,66 kJ/mol), vitamina C (41,27 kJ/mol), licopeno (18.84 kJ/mol) y β-cryptoxantina (18,23 kJ/mol). Todos los componentes evaluados presentan una cinética de degradación térmica de primer orden ($R^2 > 0,90$), y una tasa constante de cambio en la degradación de cada micronutriente que puede ser explicado según el modelo Arrhenius ($R^2 > 0,95$). Al final del estudio se pudo determinar que los fitoquímicos estudiados en el tomate de árbol tienen un grado de termo resistencia con el siguiente orden: β-criptoxantina > licopeno > vitamina C > zeaxantina >

provitamina A > β-caroteno > α-caroteno, siendo la β-criptoxantina la más resistente a la temperatura.

Xiao et al. (2018) realizaron los análisis cualitativos y cuantitativos de los carotenoides zeaxantina, β-criptoxantina, β-caroteno trans y cis usando tecnología HPLC-DAD-MS, calculando los parámetros cinéticos y termodinámicos por regresión no lineal. En los resultados se pudo determinar que todo el contenido de trans carotenoides decreció con el incremento del tiempo de calentamiento y la temperatura. Las tasas de degradación de la luteina, zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno fueron aumentando con el mismo orden que se incrementó la temperatura, la mayor energía de activación fue para la zeaxantina (65,6 kJ/mol) siendo la más fuerte, seguido por la luteína (38,9 kJ/mol) y la β-criptoxantina (33,9 kJ/mol), donde el más débil fue para el β-caroteno (8,6 kJ/mol).

Song et al. (2018) determinaron la cinética de degradación de carotenoides en calabazas deshidratadas almacenadas a 4, 25 y 40 °C en condiciones de aire y atmósfera controlada (N_2), durante 210 días de almacenamiento. La degradación de los carotenoides como el β-caroteno, el α-caroteno y luteína siguió una cinética de primer orden. Los autores encontraron para las muestras envasadas en atmósfera controlada una energía de activación (E_a) de 21,53, 18,12 y 23,69 kJ/mol para β-caroteno, el α-caroteno y luteína respectivamente, y para muestras envasadas al aire una E_a de 13,82, 14,25 y 20,01 kJ/mol para β-caroteno, el α-caroteno y luteína respectivamente.

Fratianni et al. (2017) determinaron la cinética de degradación de carotenoides y del color en frutas de albaricoque durante el calentamiento por convección a 5, 60, y 70 °C. Los autores encontraron que la degradación de los carotenoides se describió adecuadamente mediante un modelo cinético de primer orden, con una E_a de 120,0 kJ/mol para β-criptoxantina, mientras que la degradación del color expresada como la diferencia de color total (TCD) siguió una cinética de degradación de orden cero, con E_a de aproximadamente de 67 kJ/mol.

Koca et al, (2007) determinaron la cinética de degradación del β-caroteno y pérdida de color en rebanadas de zanahoria deshidratada y blanqueadas durante el almacenamiento a 27, 37, 47 y 57 °C. Los autores encontraron que la degradación del β-caroteno y la pérdida de color siguieron una reacción de primer orden, presentando una E_a en β-caroteno de 15,8 kcal/mol para zanahoria blanqueada y 9,3 kcal/mol para la deshidratada.

La pérdida de color se determinó sobre la base de los parámetros a* y b* en zanahoria escaldada presentando valores de E_a de 15,7 y 21,7 kcal/mol respectivamente y en zanahoria deshidratada a*=10,5 kcal/mol y b*=14,7 kcal/mol. Los autores también investigaron el pardeamiento no enzimático de las zanahorias deshidratadas y determinaron que esta reacción se ajustó al modelo cinético de orden cero presentando valores de E_a de 25,3 kcal/mol para zanahoria blanqueada y 25,9 kcal/mol para deshidratada.

El modelamiento cinético en productos de panificación se ha centrado en el desarrollo del dorado de la superficie de los productos horneados durante la cocción y la degradación de compuestos bio-activos como las antocianinas.

Sui, Yap, & Zhou, (2015) estudiaron el modelo no isotérmico de la degradación de dos antocianinas especificas en pan elaborado con la incorporación de harina de arroz negro horneado a 200, 220 y 240 °C. Los autores asumieron una cinética de degradación de primer orden obteniendo una tasa de degradación (k_{ref}) de cianidin-3-glucósido y cianidin-3-rutinósido en la miga del pan a la temperatura de referencia (T_{ref}) 65 ° C de 2,49×10−5 y 1,93×1−5 s^{-1}, respectivamente. Los valores de k_{ref} de cianidin-3-glucósido y cianidin-3-rutinósido en la corteza de pan (T_{ref} = 125 ° C) fueron de 5,37×10−4 y 5,72 ×10−4 s^{-1}.

Ureta, Olivera, & Salvadori, (2014) estudiaron la influencia de las condiciones de cocción en la calidad de los muffins durante las temperaturas de horneado de 140, 160, 180, 200 y 220 °C. Los autores encontraron que el modelo más apropiado entre los cinco modelos primarios diferentes que probaron (orden cero, primer orden, parabólico, Weibull y logístico) para modelar la cinética de pardeamiento fue el modelo logístico. Los parámetros cinéticos como K (s^{-1}) y $t_{1/2}$ fueron calculados.

Lara et al. (2011) evaluaron sistemáticamente los cambios en los parámetros de calidad y las propiedades físicas de las galletas de maíz durante el horneado en tiempo real y diferentes temperaturas de horneado 190, 210, 230 y 250 °C utilizando un sistema de visión por computadora. Las propiedades físicas como el color, el dorado de la corteza y el volumen especifico se determinaron mediante la técnica de análisis de imagen utilizando un sistema de visión computarizado (CVS), los parámetros de calidad evaluados fueron pérdida de peso y firmeza de las galletas. Los autores concluyeron que las mediciones de expansión de color y volumen a través del sistema CVS proporcionaron valores

reproducibles de oscurecimiento y cambios de volumen sin invasión de la muestra, también demostraron con su estudio que la estructura de la matriz y sus modificaciones dinámicas desempeñan un papel decisivo en la determinación de la cinética de los fenómenos fisicoquímicos.

Purlis & Salvadori, (2009) estudiaron el desarrollo del dorado en la superficie del pan horneado a 180, 200 y 220 °C siguiendo la metodología de visón por ordenador. Asumieron una cinética de degradación de primer orden representada por la variación del parámetro luminosidad (L*) de la superficie del pan. Además, observaron que los requisitos mínimos para el inicio de la formación del color son temperaturas superiores a 120 °C y actividad de agua inferior a 0,6.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Acondicionamiento de la materia prima

Se adquirió 20 kg de mandarina Oneco de un supermercado ubicado en la galería Alameda en la ciudad de Santiago de Cali (Valle del Cauca) en estado de madurez organoléptica cuyo epicarpio presentaba un 90% de coloración naranja, del cual se obtuvo 4 kg de epicarpio aproximadamente, es decir 20% de subproducto. El siguiente acondicionamiento se realizó en el laboratorio de Tecnología de Frutas y Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira: La mandarina fue lavada con una solución agua jabón a una relación de 1:4, se juagó con agua para retirar el jabón. Se desinfectaron las mandarinas en una solución de hipoclorito a 100 ppm durante 5 minutos, se peló y se cortó la piel de cada mandarina en julianas bien delgadas a 2,8 mm de espesor y 65 mm de longitud aproximadamente. La piel en julianas fue sometida a un tratamiento térmico de escaldado con agua a 85ºC durante 2 minutos y posteriormente a un choque frio a 15°C. Posteriormente se sumergió en una solución de metasulfito a 100 ppm durante 5 minutos, se escurrió y se congeló para su posterior deshidratación.

Seguido a la congelación, se deshidrató en un secador de bandejas convectivo ubicado en el laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira a una temperatura de 40 ºC y una velocidad de aire de secado de 3 m/s, hasta obtener una humedad constante de 8%. Se realizó una reducción de tamaño al material deshidratado en un molino de cuchillas IKA Labortchnik M hasta obtener un tamaño de partícula de tal manera que el 98% de la harina pasó por un tamiz Tyler número 200. Posteriormente la harina se guardó en un frasco de vidrio y se almacenó bajo condiciones de refrigeración a una temperatura de 4 ºC. (Potosi, Navegas, & Martínez, C., 2017).

7.2 Análisis físico químicos

En el laboratorio de Tecnología de Frutas y Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, se realizaron por triplicado los siguientes análisis físico químicos a la piel de mandarina en fresco y deshidratado:

7.2.1 Materia seca

La materia seca o porcentaje de humedad se determinó siguiendo el protocolo AOAC 925.09, (2000): Se pesó 1 g de la muestra en una balanza de humedad balanza Precisa XM60, e=0,01, Suiza. Se registró el peso inicial y el peso final. El porcentaje de humedad se calculó mediante de la ecuación (7.1):

$$\%Humedad : \frac{Peso\ Final}{Peso\ Inicial} * 100 \qquad (7.1)$$

7.2.2 Color

El color de las muestras se determinó según Ordóñez-Santos, Martínez-Girón, & Arias-Jaramillo, (2017), mediante la lectura de las coordenadas L*, a* y b* en un colorímetro Konica Minolta CR-400. El colorímetro se estandarizó con una baldosa negra y una blanca (Y=89.5; x= 0.3176; y y= 0.3347) usando el iluminante D65 y un observador 2º. Los valores numéricos de L*, a* y b* se convirtieron en croma (C*) y ángulo de matiz (hº) mediante las siguientes ecuaciones:

$$C^* = \left(a^{*^2} + b^{*^2}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad (7.2)$$

$$h^{\circ} = \tan^{-1}\ (b^*/a^*) \qquad (7.3)$$

7.2.3 Actividad de agua (aw)

La actividad de agua (aw) de las muestras se determinó siguiendo el protocolo AOAC 978.19, (2000). Se tomó la muestra y se llenó hasta aforar el porta muestra del equipo de determinación de Aw AQUALAB, 4TE, México.

7.2.4 pH

El pH de las muestras se determinó siguiendo el protocolo NTC 4592, (1999). Se tomó 5 g de muestra y se diluyó en 45 ml de agua destilada, se trituró y se filtró. Se realizó la lectura del pH en el pH-metro SI Analytics, Lab 855.

7.2.5 Acidez

La acidez titulable de las muestras se determinó siguiendo el protocolo AOC 936, (1999). El ácido característico o predominante presente en la piel de mandarina es el ácido cítrico (Stuetz et al. 2010) con un peso equivalente de 64 g. Se tituló la muestra utilizando un indicador seleccionado fenolftaleína y se expresó en gramos de ácido cítrico por 50 ml de muestra. El porcentaje de acidez se determinó mediante la ecuación (7.4):

$$\%Acidez = \frac{ml\ NaOH * N\ NaOH * meq.ácido}{g\ muestra\ titulada} * 100 \qquad (7.4)$$

7.2.6 Determinación de compuestos fenólicos totales

La concentración de fenoles totales se determinó siguiendo la metodología de Ordóñez-Santos et al. (2017). Se pesó 0,25 g de muestra en un tubo de ensayo forrado con papel aluminio y se adicionó 10 ml de etanol: Agua a una relación de 80:20 %v/v. Se agitó en una plancha de agitación a 150 rpm durante tres minutos y posteriormente se sonificó la mezcla durante 20 minutos a 25 ºC. Pasado este tiempo se filtró el extracto y se mezclaron 5 ml de agua destilada, 0,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu y 0,5 ml del extracto dejando reaccionar durante 2 min a temperatura ambiente. Pasado el tiempo se adicionó 1 ml de carbonato de sodio anhídrido al 20% y se sometieron los tubos a baño térmico durante 15 min a 45 ºC. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente las muestras. La absorbancia de las muestras se midió a 765 nm usando el espectrofotómetro Spectrophotometer Jenway 6320D, USA. Para la determinación de fenoles totales se realizó una curva de calibración (0,002 a 0,017 mg de ácido gálico (AG) por ml de solución, con un coeficiente de correlación (R^2) de 99,55%).

7.2.7 Determinación de la capacidad antioxidante (% DPPH)

La actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, se determinó siguiendo la metodología de Martínez-Girón et al.

(2017). Se pesó 0,1 g de muestra en un tubo de ensayo forrado con papel aluminio y se adicionó 10 ml de metanol. Se agitó en una plancha de agitación a 150 rpm durante 3 minutos y posteriormente se sonificó la mezcla durante 20 minutos a 25 ºC. Pasado este tiempo se filtró el extracto y se tomó 1 ml del extracto y se mezcló con 2 ml del reactivo DPPH 0,1 mM recién preparado. Se elaboró un control con 1 ml de metanol y 2 ml de DPPH recién preparado. Se dejó en reposo durante 1 h en la oscuridad la muestra y el control. Pasado este tiempo se midió la absorbancia de la muestra y el control usando el espectrofotómetro Spectrophotometer Jenway 6320D, USA, a una longitud de onda de 517 nm.

El porcentaje de actividad antioxidante en términos de inhibición del radical DPPH se determina mediante la siguiente ecuación (7.5):

$$DPPH(\%) = \frac{A517control - A517muestra}{A517Control} * 100 \quad (7.5)$$

Donde $A517$ es la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm.

7.3 Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina

Las propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina como el índice se absorción de agua, índice de absorción de aceite, poder de hinchamiento y expansión de cocción, se determinaron siguiendo la metodología de Julianti et al. (2017):

7.3.1 Índice de absorción de agua e índice de absorción de aceite

El índice de absorción de agua e índice de absorción de aceite de la harina de epicarpio de mandarina se determinaron tomando 1 g de harina suspendido en 5 ml de agua para el índice de absorción de agua y aceite vegetal para el índice de absorción de aceite, en un tubo centrifugo. La suspensión se agitó en una plancha de agitación durante 1 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se desechó y se pesó el sedimento. El índice de absorción de agua e índice de absorción de aceite se expresaron como peso del sedimento / peso inicial de la muestra de harina (g/g).

7.3.2 Poder de hinchamiento

El poder de hinchamiento de la harina de epicarpio de mandarina se determinó tomando 0,1 g de harina en un tubo de centrifuga y se añadió agua destilada hasta alcanzar un volumen de 10 ml. Se agitó la muestra suavemente durante 30 segundos a temperatura ambiente y luego se calentó a 60 °C durante 30 min. Se enfrió la muestra a temperatura ambiente y se centrifugó a 3000 rpm durante 30 min. Se registró el peso del sedimento.

7.3.3 Expansión de cocción

La expansión de cocción de la harina de epicarpio de mandarina se determinó cocinando parcialmente 24 g de harina con 30 ml de agua destilada hirviendo. La mezcla se homogenizo para formar una masa que se moldeó y se horneo en un horno eléctrico a 200 °C durante 20 min. La muestra se pesó y se hizo impermeable con parafina, se determinó el volumen con el método de desplazamiento de agua. La expansión se calculó dividiendo el volumen entre el peso y se expresó como volumen especifico (ml/g).

7.3.4 Determinación del contenido de carotenoides

Los carotenoides se cuantificaron siguiendo la metodología de Ordóñez-Santos et al. (2017). Se pesó 0,1 g de muestra triturada en un tubo de ensayo, se adicionó 7 ml de una solución de etanol/hexano a una relación 4:3. Los tubos de ensayo se pusieron en un matraz con agua helada y se cubrieron con una bolsa negra para protegerlos de la luz. Posteriormente se sometieron a agitación a 140 rpm en una plancha de agitación durante 1h. Transcurrido el tiempo se adicionó 1ml de agua destilada y se sometieron a agitación durante 10 min.

Se visualizó una separación de fases, en la parte superior el hexano y en la parte inferior el etanol y agua. Se leyó en el espectrofotómetro Spectrophotometer Jenway 6320D, USA, la fase orgánica (hexano) a 450, 444, 451 y 472 nm para β- caroteno, α- caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno respectivamente. El contenido de carotenoides disueltos en hexano se calculó mediante la ecuación (7.6):

$$\mu g \frac{carotenoides}{gpf} = \frac{A*V*10^4}{A^{1\%}lcm*P} \qquad (7.6)$$

Donde A es la absorbancia, V el volumen de la capa de hexano, P es el peso de la muestra (g), y el coeficiente de extinción 2560, 2800, 2460, 2480 y 3540 ($A^{1\%}lcm$) para β- caroteno, α- caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno respectivamente.

7.4 Primer objetivo: "Optimizar el proceso de extracción asistido por ultrasonido (EAU) de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*)"

7.4.1 Tratamiento ultrasónico

El tratamiento ultrasónico se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Ordóñez-Santos, Pinzón-Zarate, & González-Salcedo, (2015), el solvente utilizado en la extracción con ultrasonido fue aceite de girasol y las proporciones manejadas de relación solido líquido se encuentran descritas en la tabla 7-2. La extracción asistida por ultrasonido se realizó por el método de baño maría en un ultrasonido Branson Ultrasonics, 1510, EE. UU, que opera a una frecuencia de 40 kHz y una potencia de entrada de 80 W y Ultrasonic Cleaner, HB-S49DHT, China, que opera a 42 kHz y una potencia de entrada de 240 W. La lectura del espectro de absorbancia de los carotenoides extraídos se realizó en el espectrofotómetro Spectrophotometer Jenway 6320D, USA. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y la experimentación se llevó acabo en el laboratorio de Tecnología de Frutas y Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

7.4.2 Cuantificación de los carotenoides totales

La cuantificación de los carotenoides se determinó siguiendo la metodología de Ordóñez-Santos et al. (2015). Se tomó 4 ml de aceite de girasol pigmentado y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Spectrophotometer Jenway 6320D, USA, para β-caroteno frente el aceite de girasol como blanco. El rendimiento se calculó mediante la ecuación (7.7):

$$Carotenoide\ como\ \beta caroteno\ \left(\frac{mg}{100\text{g de muestra seca}}\right) = \frac{A*V*P}{E*W} * 100 \qquad (7.7)$$

Donde A es la absorbancia λ 464, V es el volumen en ml del aceite pigmentado, P es el peso molecular en g/mol, E es el coeficiente de extinción molar de $7{,}1 * 10^4\ M^{-1}cm^{-1}$, y W es el peso del epicarpio seco en gramos.

7.4.3 Diseño experimental

- **Identificación de variables independientes:**

La identificación de variables independientes se determinó aplicando un diseño experimental Plackett-Burman, método eficiente para identificar factores que influyen en un tratamiento entre un gran número de variables (Zhou et al. 2011). Con este diseño se evaluaron 5 factores con dos niveles para cada uno: bajo (-1) y alto (+1). Se realizaron 12 corridas experimentales por triplicado cada uno. En la tabla 7-1 se presenta los factores evaluados y sus correspondientes niveles utilizados en el diseño:

Tabla 7-1: Niveles de los factores utilizados en el diseño Plackett-Burman.

Factores		-1	+1
Potencia (W)	A	80	240
Temperatura °C)	B	30	60
Tiempo (min)	C	30	60
Relación s/l (g/ml)	D	0,0064	0,032
Tamaño de partícula (mm)	E	0,074	0,250

- **Determinación de puntos centrales**

Se realizaron las respectivas cinéticas para la determinación de los puntos centrales fijando: Temperatura 40 ºC (Li et al. 2013), tiempo 30 min (Goula et al. 2017; Xu & Pan, 2013), relación sólido-liquido 1:4 (0,0064g/ml) (Goula et al. 2017; Li et al. 2013; Ordóñez-Santos et al. 2015) y tamaño de partícula 0,074mm (de acuerdo a disponibilidad de tamices

Tyler en el laboratorio de Operaciones Unitarias de La Universidad Nacional de Colombia sede Palmira).

- **Optimización: Diseño central compuesto**

Los factores de la extracción asistida por ultrasonido se optimizaron aplicando la metodología de superficie de respuesta mediante un diseño central compuesto (DCC), con dos niveles (+1 y -1), superpuesto por puntos centrales (0) y puntos de estrella (α=1) desde el centro de acuerdo a Li et al. (2013). Los factores independientes de la extracción a optimizar según los resultados del diseño Plackett-Burman son: Temperatura (ºC), tiempo (min), relación s/l (g/ml). El tamaño de partícula, es un parámetro que debido a limitaciones en la disponibilidad de los tamices Tyler se fijó en 0,074mm, de acuerdo con los resultados obtenidos anteriormente en la determinación de puntos centrales (ver sección de resultados 8.2.2). El diseño experimental consta de 3 factores y 6 repeticiones del punto central y está regido por la siguiente ecuación:

$$N = 2^{\mathrm{k}} + 2k + C_p \qquad (7.8)$$

Donde N es el número de corridas experimentales, 2^k es el componente cubico del experimento, k es el número de factores, $2k$ son las corridas axiales y C_p es el número de repeticiones.

Las corridas experimentales fueron asignados al azar y los factores se codificaron de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$XI = \frac{Xi - Xi'}{\Delta Xi} \qquad (7.9)$$

Donde XI es el valor del punto estrella de la superficie de respuesta que muestra los puntos óptimos, Xi' es el punto central, ΔXi es el incremento de Xi que corresponde a una variación de una unidad de x, Xi corresponde a los factores de extracción codificados. En la tabla 7-2 se presenta los factores codificados (-α, +α), los puntos centrales de cada factor y sus valores extremos (-1, +1).

Tabla 7-2: Niveles codificados.

Factor[1]		-1	0	+1
Temperatura (°C)	A	40	50	60
Tiempo (min)	B	40	50	60
Relación s/l (g/ml)	C	0.0016	0.0032	0.0048

Se utilizó una ecuación polinomial de segundo orden (7.10) que incluye todos los términos de interacción para la estimación de la concentración de los pigmentos carotenoides:

$$Y = \beta_0 + \sum_i^n \beta_i X_i + \sum_i^n \sum_j^n \beta_{ij} X_i X_j + \sum_i^n \beta_{ii} X_i^2 \quad (7.10)$$

Donde Y es la variable de respuesta, el termino β_0 representa el coeficiente de modelo de intercepto, los términos β_i, β_{ii} y β_{ij}, representan los coeficientes de los términos lineales, cuadráticas y de segundo orden respectivamente, X_i y X_j son variables independientes $(i \neq j)$ y k es el número de variables. Los valores medios obtenidos en el análisis de varianza (ANOVA) se consideran significativamente diferentes cuando $p < 0{,}05$. El análisis de regresión y el trazado de las superficies de respuesta permite establecer las condiciones óptimas para los carotenoides. Los parámetros estadísticos R^2 y R^2 ajustado debe ser cercano a 1 para un buen modelo estadístico (Ordóñez-Santos et al. 2015), estos y la falta de ajuste (Lak Fit) muestra el ajuste entre los datos de la concentración de carotenoides experimentales y los predichos por el modelo, mientras que el coeficiente de variación (CV%) indica la confiabilidad de los valores experimentales del modelo.

La validación del modelo se realizó mediante la comparación con ayuda de una prueba T-Student del valor óptimo teórico y el valor experimental obtenido con los factores seleccionados en la optimización de la extracción de carotenoides presentes en el epicarpio de mandarina asistida por ultrasonido. Posteriormente se realizó la comparación con el método convencional (maceración) que consistió en dejar macerando protegido de la luz la harina de epicarpio de mandarina en aceite de girasol durante 48 h a una temperatura de 4 °C, con el fin de determinar la eficiencia (Ordóñez-Santos et al. 2015; Saini & Keum, 2018).

7.5 Segundo objetivo: “Evaluar la estabilidad térmica de los extractos carotenoides obtenidos de la piel de mandarina como fuente de colorante natural en productos de panificación”

7.5.1 Aplicación del extracto oleoso de epicarpio de mandarina en productos de panificación

En el extracto oleoso de epicarpio de mandarina obtenido en las condiciones óptimas de extracción, se determinó una concentración de β- caroteno de 1,78±0,11 µg/g de aceite, según la metodología de Mustapa et al. (2011). Los productos de panificación se elaboraron siguiendo la metodología con algunas modificaciones de Ali, Mansour, Kamil, & Hussein, (2018) y Bawa et al. (2011) para galleta, Martínez-Girón, Figueroa-Molano, & Ordóñez-Santos, (2017) para pan y Ho & Abdul, Latif., (2016) y Martínez-Girón, Figueroa-Molano, & Ordóñez-Santos, (2017) para torta. En la tabla 7-3 se presenta la formulación de cada producto.

Tabla 7-3: Formulación para la elaboración de galleta, pan y torta.

Ingredientes [1]	Galleta	Pan	Torta
Harina	100	300	75
Agua	25	108	-
Margarina	30	74	72
Huevo	-	30	75
Sal	1	6	-
Azúcar	40	30	75
Polvo de hornear	-	-	1,5
Leche entera	-	-	10
Bicarbonato	1,11	-	-
Levadura	-	6	-

[1]valores expresados en gramos.

La galleta se elaboró mezclando manualmente todos los ingredientes en un recipiente de aluminio hasta alcanzar una masa homogénea y compacta, la masa es laminada a 9 mm de espesor y cortada con un molde circular de 52 mm de diámetro, posteriormente los moldes son dispuestos en una bandeja y horneados a 170 °C durante 23 min. El pan se elaboró activando levadura seca en la mezcla de agua a 40 °C, azúcar y 10 g de harina durante 10 min, pasado este tiempo se mezcla la levadura activada con el resto de ingredientes en una batidora Kitchenaid Artisan, USA en el nivel 6 durante 15 min, se deja reposar la masa durante 15 min y se divide la masa en 60 g moldeando la masa en forma circular; Se leuda la masa a 30 °C durante 40 min y finalmente se hornea la masa a 180 °C durante 27 min. La torta se elaboró mezclando la margarina y el azúcar en una batidora Kitchenaid Artisan, USA en el nivel 2 hasta alcanzar una mezcla homogénea, posteriormente se añade el resto de ingredientes mezclando durante 5 min adicionales, finalmente se divide la masa en 40 g en recipientes circulares de aluminio de 58 mm de diámetro aproximadamente y se hornean a 215 °C durante 20 min. Según ensayos realizados previamente donde se hicieron 3 productos horneados (Pan, galleta y torta) con diferentes concentraciones de tartrazina y extracto oleoso pigmentado, se determinó cuáles de los tratamientos para cada producto reportaron los más bajos niveles de (ΔE) en la miga; el primer tratamiento fue el control con tartrazina en concentraciones de 0,005 g en galleta, 0,0025 g en pan y torta y el segundo tratamiento fue la aplicación del extracto oleoso de epicarpio de mandarina en concentraciones de 30 g de extracto en galleta y 20 g de extracto en torta y pan. Cabe resaltar que el extracto oleoso pigmentado con los carotenoides extraídos del epicarpio de mandarina y el colorante artificial tartrazina fueron incorporados a la masa sin hornear de los productos una vez se hayan mezclado homogéneamente todos los ingredientes durante el amasado.

A cada producto de panificación, se le realizaron análisis fisicoquímicos: % humedad, diferencia total de color (ΔE) (7.11) en corteza y miga, pH y contenido de carotenoides siguiendo la metodología descrita anteriormente en los puntos 7.2.1, 7.2.2, 7.2.4 y 7.2.6 respectivamente.

$$\Delta \mathrm{E} = \left(\Delta a^{*^2} + \Delta b^{*^2} + \Delta L^{*^2}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad (7.11)$$

7.5.2 Perfil de temperatura de los productos horneados

De acuerdo a la selección de los productos horneados en los ensayos preliminares realizada de la sección 7.5.1, los productos de panificación que contienen el extracto de pigmentos carotenoides obtenidos de piel de mandarina, fueron sometidos a tres temperaturas de horneado y diferentes tiempos de cocción para el estudio de estabilidad térmica: Para la galleta se designó temperaturas de horneado de 150 °C, 170 °C y 190 °C, para la torta se designaron temperaturas de horneado 190 °C, 210 °C y 230 °C y tiempos de cocción de 0, 10, 20, 30 y 40 min para cada uno; para el pan se designaron temperaturas de horneado de 160 °C, 180 °C y 200 °C y tiempos de cocción de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 min. El criterio de selección de las temperaturas de horneado se realizó de acuerdo a Lara et al. (2011), Sui et al. (2015) y Ureta et al. (2014).

7.5.3 Análisis de los parámetros físicos en los productos horneados

A cada muestra de estudio se le realizaron análisis de las propiedades físicas como % de humedad descrito en el punto 7.2.1., color superficial CIEL*a*b* en corteza y miga descrito anteriormente en el punto 7.2.2, los valores numéricos L*, a* y b* se convirtieron en croma (C*) (7.2), ángulo de tono (7.3), índice de amarillamiento (7.12), índice de pardeamiento (7.13), contenido de carotenoides descrito anteriormente en el punto 7.2.6 y % pérdida de peso (7.15):

$$YI = \frac{142.86b^*}{L^*} \tag{7.12}$$

$$IB = 100 * \frac{x-0.31}{0.17} \tag{7.13}$$

$$X = \frac{a^*+1.75l}{5.645L+a^*-3.013b^*} \tag{7.14}$$

$$Perdida\ de\ peso : \frac{W1-W2}{W1} * 100\% \tag{7.15}$$

7.5.4 Modelado cinético de carotenoides

Según Dhuique-Mayer et al. (2007); Fratianni et al. (2017); Koca et al. (2007); Song et al. (2018) y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020), la degradación térmica de los

carotenoides se expresa mediante una reacción de primer orden simple como se expresa en la ecuación 5.9.

El tiempo de reducción decimal (D), el tiempo de vida media ($t_{0,5}$, min), el coeficiente de temperatura (Q_{10}) y el coeficiente de resistencia térmica (z, °C) fueron calculados mediante las ecuaciones 5.12, 5.13, 5.14 y 5.15 respectivamente, descritas previamente por Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020).

Se determinaron los parámetros termodinámicos de la degradación de los carotenoides incluida la energía de activación (E_a), entalpía de activación (ΔH), la energía libre de inactivación (ΔG) y la entropía de activación (ΔS) mediante las ecuaciones 5.11, 5.16, 5.17 y 5.18 respectivamente, descritas previamente por Martynenko & Chen, (2016) y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020).

7.6 Análisis estadístico

En cada una de las partes experimentales de este proyecto se realizaron pruebas por triplicado tomando valores promedios de cada uno de los datos antes de hacer los análisis estadísticos.

En la primera fase de experimentos se realizó la caracterización físico químico de la harina de epicarpio de mandarina, donde se hizo la comparación de medias de dos tratamientos; fresco y deshidratado y la diferencia entre ellos se determinó mediante una prueba T-Student. El tratamiento de datos fue evaluado en el paquete estadístico minitab V17 con un nivel de confianza del 95%.

En la segunda parte experimental se llevó a cabo la optimización de la extracción de carotenoides presentes en epicarpio de mandarina utilizando el paquete estadístico Design Expert V11.0. para el análisis de datos como el diseño de experimentos, regresión, análisis de varianza ANOVA y análisis de gráficos de los datos obtenidos experimentalmente.

Para las pruebas de aplicación del extracto oleoso de carotenoides presentes en epicarpio de mandarina en los productos de panificación se realizó la comparación de dos tratamientos: Producto control con tartrazina y el producto con el extracto usando una prueba T-Student. El tratamiento de datos fue evaluado en el paquete estadístico minitab V17 con un nivel de confianza del 95%.

La degradación térmica de los carotenoides fue analizada a través de una regresión analítica utilizando el software Ms Excel (versión 10, Microsoft Corporation, Redmond, WA, EE. UU). Se determinó el coeficiente de correlación R^2 para determinar la bondad del ajuste.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Caracterización fisicoquímica de la harina de piel de mandarina

8.1.1 Propiedades fisicoquímicas en la harina de piel de mandarina

En la Tabla 8-1 se presentan los valores medios evaluados de los parámetros fisicoquímicos en la piel de mandarina en fresco y deshidratado como color superficial CIE_{L*a*b*}, fenoles totales y capacidad antioxidante (% DPPH). El análisis estadístico evidencia un efecto significativo en las variables de estudio después del proceso de deshidratación, excepto en la variable de color h° (Tabla 8-1). Los valores de % materia seca, aw, pH, L*, y C* del material en fresco son significativamente mayores a los valores obtenidos en el material deshidratado, por el contrario, el % acidez, los fenoles totales y la actividad antioxidante son significativamente mayores en el material deshidratado (Tabla 8-1).

Tabla 8-1: Parámetros fisicoquímicos de la piel de mandarina en fresco y deshidratado.

Muestra[1]	Fresco	Deshidratado	T-Studet
% Materia Seca	16,16±1,58	91,63±2,52	***
aw	0,995±0,00	0,42±0,06	***

pH	5,19±0,10	4,82±0,01	**
% Acidez	11,52±1,28	15,79±2,41	*
Fenoles totales[2]	19,81±0,60	27,07±2,68	**
% DPPH	53,27±2,80	88,79±0,93	***
L*	49,97±0,68	39,74±0,05	***
C*	43,82±1,26	25,08±0,13	***
hº	81,99±4,55	86,38±0,05	NS

[1]Valores promedios ±DS (n=3); [2]Valores expresados en mg de ácido gálico /100g de muestra b.s.;(*) significativo $p<0.05$; (**) significativo $p<0.01$; (***) significativo $p<0.001$; para dos muestras; (NS) no hay diferencias significativas.

La piel de mandarina es deshidratada hasta alcanzar un porcentaje de materia seca de 91,63±2,52% y una actividad de agua de 0,42±0,06%. La harina obtenida a partir de la cáscara de mandarina en fresco tiene un rendimiento del 17,64%. La disminución del agua disponible permite prolongar la vida útil de la misma, disminuyendo la proliferación de bacterias, hongos, mohos y reacciones enzimáticas de deterioro (Fontana, 2007).

La piel de la mandarina de acuerdo a los resultados al ser deshidratada se tornó más acida, estos cambios en las muestras evaluadas después del tratamiento térmico pueden estar asociados a los procesos de lixiviación y oxidación de los compuestos orgánicos cuando la matriz biológica es afectada por la temperatura (Canacuan, Murillo, & Ordoñez-Santos, 2016).

El aumento significativo en la cantidad de contenido de compuestos fenólicos en la muestra deshidratada, puede ser causada por la aceleración de las reacciones de escisión de sustancias fenólicas unidas en las células por el calentamiento (Tekgül & Baysal, 2018). La piel de mandarina presenta bajos niveles de compuestos fenólicos totales 19,81±0,60 y 27,07±2,68 mg de ácido gálico/ 100 g de muestra, en fresco y deshidratado respectivamente. De acuerdo con la clasificación propuesta por (Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin, 2008) la mandarina se clasifica como una fruta de bajo contenido de compuestos

fenólicos, ya que la piel presenta valores inferiores a 500 mg de ácido gálico/100g de muestra. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Ramful et al. (2011), donde clasifican a las variedades de mandarina clementina y mandarín Fairchild, Dancy, Beleza, Suhugan y Fizu como una fruta de bajo contenido de compuestos fenólicos, ya que presentan concentraciones menores a 75 mg de ácido gálico/100g de muestra..

El 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (radical DPPH) es un radical libre estable centrado en nitrógeno y al aceptar un radical de hidrógeno o un electrón, el DPPH se convierte en una molécula diamagnética estable que desempeña el papel de un antioxidante (Mathew et al. 2013). El % de actividad de captación de DPPH en la muestra deshidratada (88,79±0,93%) fue significativamente mayor que en la muestra en fresco (53,27±2,80%). Este resultado concuerda con lo encontrado por Rahman et al. (2018) donde observaron un aumento del % de actividad de eliminación de DPPH del 48% en flavedo de pomelo después del tratamiento de secado en horno a 50ºC, el autor obtuvo valores de %DPPH de 45,8% y 87,92% en fresco y deshidratado respectivamente.

La capacidad antioxidante de los extractos está influenciada por su composición química y actúa como agente protector reduciendo el daño oxidativo causado en el cuerpo, inhibiendo la per oxidación de los lípidos y retardando el progreso de muchas enfermedades (Mathew et al. 2013). Según Zou et al. (2016), la capacidad antioxidante de los cítricos está asociado a compuestos como las vitaminas, entre estos se encuentran la vitamina A que puede reaccionar con los radicales libres especialmente el oxígeno singlete ($^1O_2$) y los radicales peroxilo, la vitamina C que puede eliminar eficazmente una variedad de especies reactivas de oxígeno (ROS) y desprender ácido deshidroascórbico, eliminando $^1O_2$ y reduciendo los radicales de azufre, la vitamina E que puede proteger las membranas celulares contra el daño por la peroxidación de lípidos; minerales como el Mn, Fe, Cu, Zn y Se. Compuestos fenólicos como los flavonoides que pueden eliminar especies reactivas de oxígeno y disminuir la formación de peróxido in vivo, ácidos fenólicos a través de la deshidrogenación de los grupos hidroxilo y el efecto de la orto-sustitución en un anillo de benceno y las curcuminas debido a sus grupos hidroxilo fenólicos; y compuestos terpenoides como los limonoides, la pectina a través de la mejora de las enzimas antioxidantes endógenas y la eliminación de radicales libres y los carotenoides debido a la eliminación de radicales libres y $^1O_2$.

La reducción de los valores de color superficial L* y C* en las muestras deshidratadas concuerdan con los resultados obtenidos por Delgado-Nieblas et al. (2017) y Pacheco, Moreno, & Villamiel, (2019) al deshidratar los subproductos generados en el procesamiento de frutos cítricos. La reducción de estos parámetros de color durante el proceso de deshidratación pueden ser consecuencia de la isomeración de los carotenoides, polimerización y degradación de flavonoides, o a las reacciones de pardeamiento no enzimático, tales como condensación de hexosas y componentes de aminoácidos, y oxidación del ácido ascórbico (Canacuan et al. 2016).

8.1.2 Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina

Las propiedades funcionales son aquellas características que gobiernan el comportamiento de los componentes de los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento, ya que afectan la calidad y la aceptabilidad de los alimentos (Edun, Olatunde, Shittu, & Adeogun, 2019). En la tabla 8-2 se presenta los resultados de las propiedades funcionales evaluadas en la harina de epicarpio de mandarina como: Índice de absorción de agua, índice de retención de aceite, poder de hinchamiento y expansión de cocción o volumen específico.

Tabla 8-2: Propiedades funcionales de la harina de epicarpio de mandarina.

Propiedad funcional	Valores medios
Índice de absorción de agua (g/g)	4,96±0,14
Índice de absorción de aceite (g/g)	1,74±0,04
Poder de hinchamiento (g/g)	7,93±1,09
Expansión de cocción (ml/g)	1,47±0,03

El índice de absorción de agua es un parámetro importante ya que tiene implicaciones para la viscosidad, volumen y consistencia de los productos horneados, sin embargo, el índice de absorción de aceite es también un parámetro importante pues el aceite sirve como un retenedor del sabor, mejora la palatabilidad y extensión de la vida útil de los productos especialmente en productos de panadería donde se desea absorciones de grasa (Julianti et al. 2017). En tabla 8-2 se observa que la harina de epicarpio de mandarina presenta una mayor afinidad por el agua que el aceite, esta afinidad por el agua puede estar influenciada

por el grado de desintegración de los gránulos de almidón, fibra dietética y proteínas presentes en la harina de epicarpio de mandarina (Anyasi, Jideani, & McHau, 2015; Garcia-Valle et al. 2019), por otro lado, la absorción de aceite se relaciona principalmente por el atrapamiento físico del aceite dentro de la estructura del almidón debido a la asociación suelta de amilosa y amilopectina a través de enlaces no covalentes que se asemejan a las cadenas laterales no polares de las proteínas (Anyasi et al. 2015; Edun et al. 2019). Se ha reportado en la literatura valores similares del índice de absorción de agua en harinas de varios subproductos, por ejemplo: Harina de remolacha 8,3 g/g (Cappa, Lucisano, & Mariotti, 2013), harina de avena 8 g/g, harina de maíz 8 g/g (Sabanis, Lebesi, & Tzia, 2009) y fibra de manzana 9,4 g/g (Chen, Rubenthaler, Leung, & Baranowski, 1988). Julianti et al. (2017) encontraron que la mezcla de harina de batata, almidón de maíz y harina de soya en diferentes concentraciones tuvo una mayor afinidad por el agua variando el índice de absorción de agua entre 1,98 y 2,38 g/g, mientras que el índice de absorción de aceite oscilo entre 2,02 y 2,20 g/g. Por otra parte, Garcia-Valle et al. (2019) reportaron que la harina de pulpa de plátano verde y plátano verde entero (pulpa y cáscara) mostraron un índice de absorción de aceite que se mantuvo en el rango entre 2,53 y 2,65 g/g cada una.

El poder de hinchamiento muestra el grado de absorción de agua de los gránulos de almidón presentes en la harina de epicarpio de mandarina (Julianti et al. 2017), debida principalmente a la fracción de amilopectina (Aguilera Gutierrez, 2009) y por la gran cantidad de grupos hidroxilo existentes en las moléculas de la harina que permiten una mayor interacción del agua a través del enlace de hidrogeno (Sabanis et al. 2009). En general se ha utilizado este parámetro para demostrar las diferencias entre varios tipos de almidones (Badjona et al. 2019). Autores como Kumar et al. (2019), afirman que el aumento de la temperatura aumenta la movilidad de las moléculas del almidón, lo que debilita las fuerzas de unión, por lo tanto, aumenta la capacidad de hinchamiento, pues al calentar el almidón con agua se produce una transición de fase del almidón llamada gelatinización (Baraheng & Karrila, 2019). De otro lado, Badjona et al. (2019), afirman que las propiedades de hidratación de los materiales alimenticios además de la estructura química de los polisacáridos presentes, se ven afectadas por otros factores como la porosidad, el tamaño de partícula, la forma iónica, el pH, la temperatura, la fuerza iónica y el tipo de iones en solución. Autores como Julianti et al. (2017) reportaron un valor similar del poder de hinchamiento (7,78 g/g) de una harina compuesta de: harina de batata 50%, almidón

de maíz 30% y harina de soya 19,5%; y Baraheng & Karrila, (2019) mostraron un poder de hinchamiento de harina de semilla durian nativa y harina de semilla durian de la variedad de Chanee entera de 7,5 g/g cada una aproximadamente.

La expansión de cocción esta expresada por el volumen especifico (Julianti et al. 2017) de la harina de epicarpio de mandarina, y los cambios de volumen pueden ser debido a la ganancia de agua y gelatinización de almidón durante la cocción (Albors et al. 2016). Resultados similares obtuvieron Julianti et al. (2017), los autores informaron que los valores del volumen especifico de una mezcla de harina de batata, almidón de maíz y harina de soya en diferentes concentraciones, oscilaron entre 0,45 y 0,89 ml/g, encontrando el mayor volumen especifico en la mezcla de batata 60%, almidón de maíz 20% y harina de soya 19,5%. También se ha informado en la literatura valores de volumen especifico de 4,2 ml/g en harina de salvado de avena, 3,2 ml/g en harina de guisantes (Aprodu & Banu, 2015) y 3,7 ml/g en harina de manzana (Robertson et al. 2000), entre otros. De acuerdo a los reportes anteriores del índice de retención de agua, índice de retención de aceite, poder de hinchamiento y expansión de cocción, se puede determinar que la harina de epicarpio de mandarina presenta características adecuadas para ser utilizada en la formulación de productos de panificación.

8.1.3 Concentración de carotenoides en la harina de piel de mandarina

Los carotenoides son tetraterpenoides responsables principalmente del color rojo, naranja o amarillo de las frutas y son importantes precursores de la vitamina A (Da Silva et al. 2014). También los carotenoides poseen varias propiedades funcionales, como la promoción de la actividad cardiovascular, capacidad antioxidante y anticancerígeno (Yoo & Moon, 2016).

En la Tabla 8-3 se presentan los valores de la concentración de carotenoides evaluados en la piel de mandarina en fresco y deshidratado. El análisis estadístico evidencia un incremento significativo de los carotenoides después de la deshidratación de las muestras.

Tabla 8-3: Contenido de carotenoides presente en la piel de mandarina en fresco y deshidratado.

Muestra[1]	Fresco	Deshidratado	T-Student
β- caroteno	20,81±3,58	116,52±0,45	***
α- caroteno	22,16±4,59	112,15±3,99	***
β-criptoxantina	21,17±3,24	119,06±0,11	***
zeaxantina	21,00±3,21	118,10±0,11	***
licopeno	16,58±0,62	67,76±2,74	***

[1]Valores promedios ±DS (n=3); los valores son expresados en µg/g de muestra seca; (***) significativo $p<0.001$, para dos muestras.

Este aumento en la concentración de carotenoides se le atribuye al tratamiento térmico que fue sometido el material en fresco en el proceso de deshidratación (Martínez-Girón et al. 2017), ya que el tratamiento térmico (deshidratación) aumenta la biodisponibilidad de los carotenoides al destruir la integridad de la pared celular y las membranas de los orgánulos en los que se encuentran retenidos, también el calor desnaturaliza los complejos proteína-carotenoides favoreciendo su liberación de la matriz alimentaria (Cilla, Bosch, Barberá, & Alegría, 2018) y tratamientos térmicos como el escaldado está asociado con la inhibición de la enzima lipoxigenasa (LOX), la cual está relacionada con la destrucción o blanqueado de pigmentos carotenoides (Hayward, Cilliers, & Swart, 2017). Al mismo tiempo, la perdida de humedad significa que los sólidos solubles están más concentrados en la muestra favoreciendo la retención de los carotenoides (Potosí-Calvache, Vanegas-Mahecha, & Martínez-Correa, 2017)

La concentración obtenida de la piel de mandarina deshidratada de β- caroteno y licopeno fue muy elevada comparada con los reportados por Casarotti et al. (2018) en subproductos deshidratados derivados del procesamiento industrial de naranja y maracuyá; los autores reportaron concentraciones de β- caroteno 39,14 µg /g de muestra seca y licopeno 18,51 µg /g de muestra seca para naranja y β- caroteno 56,07 µg/g de muestra seca y licopeno 28,57 µg /g de muestra seca para maracuyá. La concentración obtenida β-criptoxantina en la piel de mandarina fresca fue mayor que la reportada por Agócs et al. (2007), los autores reportaron valores de 13,4 µg/g de muestra seca en mandarina clementina, 11,4 µg/g de

muestra seca en naranja china, 11,3 µg/g de muestra seca en pomelo y 19,9 µg/g de muestra seca en limón. Las variaciones de la concentración de carotenoides pueden atribuirse a las prácticas agrícolas, exposición al sol, el área de producción, etapa de maduración, manejo pos cosecha y metodología utilizada para el análisis (Vieira da Silva Júnior et al. 2018).

Se obtiene una concentración levemente mayor de los carotenoides α- caroteno y β-criptoxantina en el material en fresco, mientras que en el material deshidratado se obtiene concentraciones mayores en los carotenoides β-criptoxantina y zeaxantina. El carotenoide β-criptoxantina es el responsable de la coloración naranja la piel de mandarina (Conesa et al. 2019) razón por la cual es uno de los carotenoides predominantes en las dos muestras evaluadas.

El licopeno fue el pigmento que presentó menor concentración tanto en fresco y deshidratado, se presentan concentraciones de 16,58±0,62 µg/g de muestra seca y 67,76±2,74 µg/g de muestra seca respectivamente. Este carotenoide es considerado el carotenoide con la mayor capacidad para eliminar el oxígeno singlete. Los estudios han demostrado que el licopeno protege las moléculas lipídicas, las lipoproteínas de baja densidad, las proteínas y el ADN contra los ataques de radicales libres, desempeñando un papel esencial en la protección contra las enfermedades (Da Silva et al. 2014).

8.2 Primer objetivo: “Optimizar el proceso de extracción asistido por ultrasonido (EAU) de los pigmentos carotenoides presentes en la piel de mandarina (*Citrus reticulata*)”

8.2.1 Determinación de variables independientes en la extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en la piel de mandarina

Las variables independientes o factores individuales en un diseño experimental determinan directamente los cambios en las variables dependientes o de estudio, para el proceso de extracción se presenta en la tabla 8-4 el efecto de los factores individuales sobre los carotenoides totales expresado en mg de β-caroteno /100 g de muestra seca, mientras que en la tabla 8-5, se presenta el análisis estadístico de varianza ANOVA del diseño Plackett-

Burman, donde se identifican los factores fijos para optimizar la extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en la piel de mandarina. Los factores temperatura, relación solido-líquido y tamaño de partícula tuvieron un efecto significativo ($p<0,05$), mientras que la potencia y el tiempo en este estudio no fueron significativos ($p>0,05$).

Tabla 8-4: Efecto de los factores individuales en la concentración de carotenoides totales.

Tratamiento	A	B	C	D	E	Carotenoides totales[1]
1	1	-1	1	1	1	30,47±5,15
2	1	1	1	-1	-1	96,57±2,51
3	1	-1	-1	-1	1	17,49±1,02
4	-1	-1	-1	-1	-1	53,88±4,69
5	-1	1	1	-1	1	77,82±0,97
6	1	1	-1	-1	-1	85,70±5,69
7	-1	-1	1	-1	1	26,15±3,28
8	-1	-1	-1	1	-1	12,70±1,33
9	-1	1	1	1	-1	75,02±2,92
10	1	1	-1	1	1	16,92±0,54
11	-1	1	-1	1	1	31,54±2,91
12	1	-1	1	1	-1	36,42±4,41

[1]Valores promedios ± DS (n=3); Valores expresado en mg de β-caroteno /100g de muestra seca.

Tabla 8-5: Efecto de los factores y análisis estadístico (ANOVA) del diseño Plackett-Burman.

Fuente	Suma de cuadrados	df	Media de cuadrados	Valor F	Valor p
Modelo	7483,06	5	1496,61	10,60	0,0061
A-Potencia	124,13	1	124,13	0,8796	0,3845
B-Temperatura	2532,46	1	2532,46	17,94	0,0055

C-Tiempo	706,77	1	706,77	5,01	0,0665
D-Relación s/l	2039,20	1	2039,20	14,45	0,0090
E-Tamaño partícula	2080,48	1	2080,48	14,74	0,0086
Residual	846,77	6	141,13		
Cor Total	8329,82	11			

Significativo (p<0,05).

La potencia es un factor que influye en el rendimiento de la extracción de los carotenoides, al aplicar altos valores de potencia las burbujas se hacen más grandes y la concentración de los carotenoides pueden disminuir, debido a que el aumento excesivo en el tamaño de las burbujas de cavitación provocan la reducción del efecto de cavitación y la posible dispersión de las ondas ultrasónicas (Tsiaka et al. 2015; Fengwei Yan, Fan, He, & Gao, 2015). Los equipos ultrasónicos utilizados en este estudio, trabajan con frecuencias de 40 kHz y 42 kHz y potencia de 80 W y 240 W respectivamente; Se ha informado que los rangos de frecuencia donde se obtienen mayores rendimientos de extracción está entre 20-40 kHz (Tiwari, 2015), estas se denominan bajas frecuencias y se caracterizan por inducir una cavitación inestable en el sistema, donde el colapso violento de las burbujas de cavitación generan una temperatura y presión más altas en la zona de cavitación (Roselló-Soto et al. 2015; Welti-Chanes et al. 2017), sin embargo, al aumentar la frecuencia la zona de cavitación se vuelve menos violenta y puede reducir la intensidad del ultrasonido para la extracción y en consecuencia reducir la eficiencia de la extracción (Tao & Sun, 2015), por tal motivo, para lograr la cavitación deseada, la intensidad ultrasónica debe incrementarse con el aumento de la frecuencia para superar las fuerzas cohesivas del disolvente y la muestra (Tiwari, 2015), debido a lo anterior, se podría explicar por qué según el análisis de varianza ANOVA, la potencia es un factor que no tuvo efecto significativo en la extracción realizada dado que aplicando una señal con potencia de 80 W a una frecuencia de 40 kHz tuvo el mismo efecto de extracción que a una potencia 240 W a una frecuencia de 42 kHz.

La temperatura es un factor significativo en la extracción, debido a que la temperatura elevada da como resultado una mayor velocidad de difusión de los extractos, menor viscosidad del disolvente (Fengwei Yan et al. 2015), disminución de la tensión superficial,

lo que lleva a una mejor humectación de la muestra y la penetración de la matriz; el aumento del movimiento molecular del solvente que conduce a una mayor solubilidad; y la destrucción de la matriz celular, aumentando la disponibilidad y rendimiento de la extracción del compuesto de interés (Silva et al. 2018). Sin embargo, los carotenoides son compuestos termo sensibles y un aumento adicional en la temperatura podría disminuir su rendimiento probablemente debido a la degradación térmica, ya que a temperaturas superiores de 40- 50°C se puede provocar la descomposición de la estructura del carotenoide (Tsiaka et al. 2015).

El tiempo de extracción es un factor que está asociado al nivel de intensidad del ultrasonido y al tener un valor de significancia p cercano a los criterios de selección (p=0,0665) se considera en este estudio un factor significativo en la extracción. El tiempo prolongado del tratamiento ultrasónico puede mejorar la transferencia de masa, ya que se requiere un tiempo suficiente para que el ultrasonido pueda interrumpir la estructura celular y promover la liberación de componentes internos para ser trasferidos al solvente exterior a través de ósmosis y la difusión, lo que resulta en un mayor rendimiento de extracción (Tao & Sun, 2015; Fengwei Yan et al. 2015). Sin embargo, un tratamiento ultrasónico prolongado no es beneficioso debido a que los componentes internos se liberan hacia afuera gradualmente, el frente de difusión se mueve hacia el interior de las materias primas, el área de difusión se reduce y la velocidad de difusión disminuye, también, la presión osmótica entre el interior y el exterior de las materias primas pueden llegar al equilibrio cuando la velocidad de difusión disminuye provocando una reducción en el rendimiento de la extracción (Tao & Sun, 2015). Por otro lado, un tiempo ultrasónico en exceso puede ser perjudicial para los componentes extraídos ya que pueden ocasionar la degradación de los carotenoides debido a la degradación oxidativa (Benmeziane et al. 2018).

La relación solido-liquido es un factor significativo en la extracción ya que al aumentar este factor, se puede disminuir la solubilidad del aceite debido a la saturación del mismo, generando una menor transferencia de masa y por lo tanto un menor rendimiento en la extracción (Li et al. 2013). Durante el tratamiento ultrasónico, ocurren daños estructurales en la superficie de las partículas como: Difusión, efectos capilares que incluyen vórtices de microestreaming y movimiento peristáltico, pasaje transitorio de la membrana celular y eventos térmicos locales. El daño estructural de la superficie se produce principalmente en frecuencias por debajo de 100 kHz en los tratamientos con ultrasonidos de alta intensidad

y es la consecuencia de un colapso de burbujas de cavitación inestable cerca de la superficie celular (Roselló-Soto et al. 2015). En el tratamiento con ultrasonido, la rotura de la membrana del cromoplasto y el colapso de la pared celular se producen debido a la cavitación (Aadil et al. 2015). La cavitación producida por las ondas ultrasónicas conduce a la formación de micro canales en el material biológico, estos micro canales permiten el paso de los carotenoides, al disolvente de extracción. Dichos ciclos de expansión y contracción causan la ruptura en la pared celular de la matriz favoreciendo la penetración del disolvente y la transferencia de masa de compuestos, permitiendo que el contenido intracelular se libere de manera más eficiente (Vieira da Silva Júnior et al. 2018).

El tamaño de partícula es un factor significativo en la extracción debido a que un tamaño de partícula pequeño significa un área de superficie grande, que puede beneficiar la penetración de la onda ultrasónica en la materia prima y lograr una mayor liberación de componentes internos, sin embargo, si el tamaño de partícula es demasiado pequeño, las partículas sólidas pueden flotar en la superficie del solvente, lo que puede reducir los efectos ultrasónicos disminuyendo la eficiencia de la extracción (Tao & Sun, 2015).

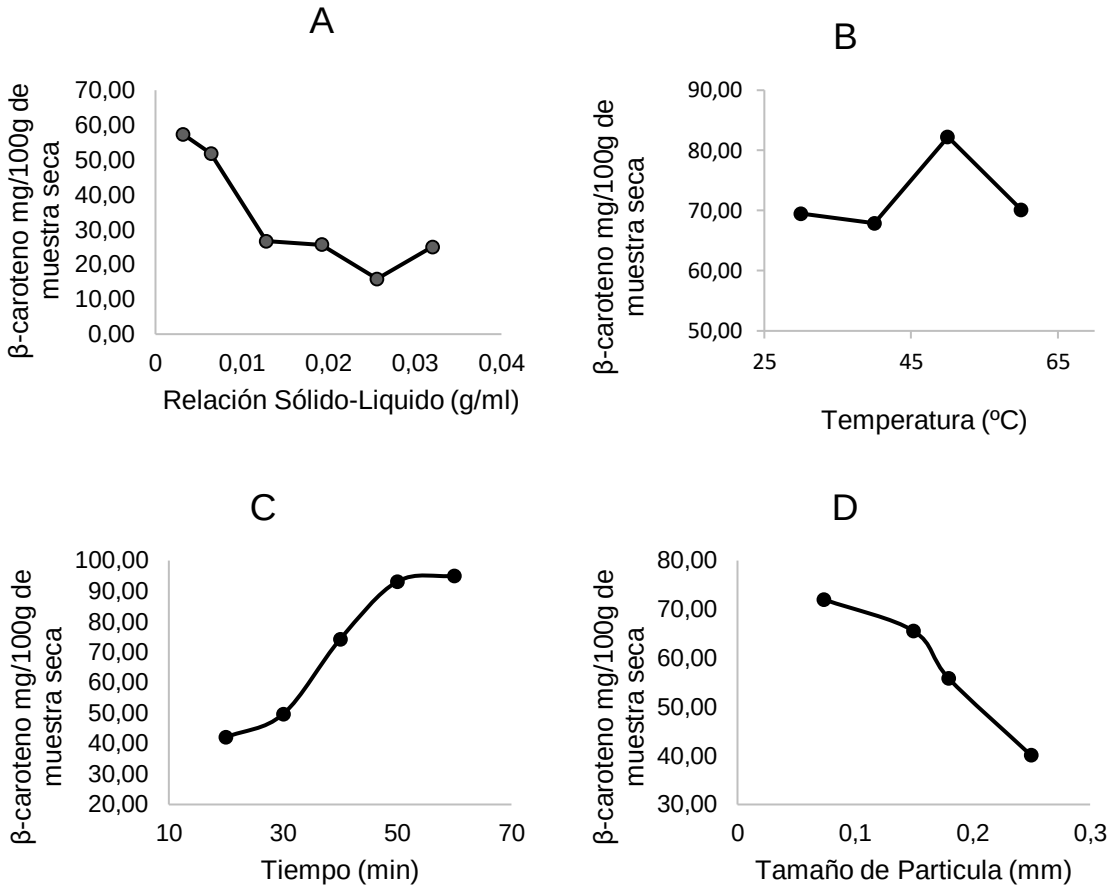
8.2.2 Determinación de puntos centrales

Los puntos centrales determinan los valores de las variables independientes donde se podría ser más óptimo el proceso para obtener la mayor extracción de carotenoides, para este propósito la concentración de carotenoides totales se relacionó con cada una de las variables significativas en la extracción donde se modificaron mientras las no significativas estuvieron constantes (Ordoñez S., Osorio Mora, & Pinchao P., 2019). Como lo arrojó el estudio del apartado anterior la potencia es un parámetro que no tiene efecto significativo en la extracción, debido a esto se mantuvo constante en todos los tratamientos. Por lo anterior y razones prácticas se utilizó el equipo con más capacidad de muestras que tiene una potencia de 240 W. Los factores individuales que tuvieron un efecto significativo en el proceso de extracción de carotenoides totales en este estudio (Temperatura, tiempo, relación solido-líquido y tamaño de partícula), variaron en los siguientes rangos: Temperatura 30, 40, 50 y 60 ºC (Li et al. 2013), tiempo 20, 30, 40, 50, y 60 min (Goula et al. 2017; Xu & Pan, 2013), relación solido-liquido 0,5:4 (0,0032 g/ 4 ml),1:4 (0,0064 g/ 4 ml), 2:4 (0,0128 g/ 4 ml), 3:4 (0,0192 g/ 4 ml), 4:4 (0,0256 g /4 ml) y 5:4 (0,032 g / 4 ml) Goula et al. 2017; Li et al. 2013; Ordóñez-Santos et al. 2015), y tamaño de partícula 0,074,

0,15, 0,18 y 0,25 mm (de acuerdo a disponibilidad de tamices Tyler en el laboratorio de Operaciones Unitarias de La Universidad Nacional de Colombia sede Palmira).

En la figura 8-1, se observa el efecto que tienen los factores de extracción sobre el rendimiento de los carotenoides totales presentes en la piel de mandarina. En la figura 8-1 A, se muestra el efecto de la relación solido-líquido en la extracción, se encontró que a una relación de 0,0032 g / ml se obtiene un mayor rendimiento de carotenoides totales 57,34±8,94 mg β-caroteno /100 g de muestra seca y a relaciones mayores disminuye significativamente la concentración, esto puede ser debido a que el aceite de girasol se volvió gradualmente más saturado, disminuyendo su solubilidad (Li et al. 2013). Se ha reportado que a mayor proporción de disolventes de extracción puede causar mayor diferencia de concentración de las fases, facilitando la transferencia de masa y difusión de los carotenoides totales en el medio (Benmeziane et al. 2018). Goula et al. (2017) y Li et al. (2013) reportaron que la relación solido-liquido óptima para obtener una mayor concentración de carotenoides totales presentes en granada y residuos de cítricos es 2:10 y 3:30 respectivamente. Por otro lado, Ordóñez-Santos et al. (2015), reportaron que la relación óptima para la extracción de carotenoides totales de chontaduro usando como solvente aceite de girasol es de 1:4 (0,0064 g / 4 ml).

Figura 8-1: Efecto de los factores de extracción sobre el rendimiento de extracción de carotenoides totales presente en epicarpio de mandarina. (A) efecto de la relación solido-liquido (B) Efecto de la temperatura, (C) Efecto del tiempo de extracción y (D) Efecto del tamaño de partícula.



En la figura 8-1 B, se muestra el efecto de la temperatura de extracción sobre el rendimiento de carotenoides totales, se encontró que la concentración de los carotenoides totales aumenta conforme aumenta la temperatura, alcanzando un máximo rendimiento de carotenoides totales 82,23 ±10,06 mg β-caroteno /100 g de muestra seca a 50 ºC. El aumento de la temperatura provocó la interrupción del cizallamiento, el adelgazamiento de las membranas celulares y la disrupción celular, lo que resultó en una mayor penetración del disolvente en las células y mayor transferencia de masa de los carotenoides totales al disolvente (Tiwari, 2015). Al mismo tiempo, el aumento de la temperatura redujo la viscosidad del solvente mejorando el proceso de cavitación y a la vez favorece la eficiencia

de la extracción (Tao & Sun, 2015), por otra parte, la temperatura de extracción es un factor crucial en la extracción de compuestos termo sensibles como los carotenoides debido a que estos son inestables a altas temperaturas y su degradación comienza a partir de 55 ºC (Tsiaka et al. 2015), debido a esto, la concentración de carotenoides totales disminuyó significativamente al sobrepasar los 50 ºC. Song et al. (2018) reportaron que la degradación de los carotenoides durante la extracción, se debe a la isomerización Cis-trans, la escisión oxidativa y /o a la epoxidación del esqueleto de los carotenoides producto del efecto secundario de la sonicación. Goula et al. (2017) y Li et al. (2013), reportaron que 40 ºC es la temperatura óptima para la extracción de carotenoides totales presentes en granada y zanahoria utilizando como solvente aceite de girasol y soya.

En la figura 8-1 C, se evidencia el efecto del tiempo de sonicación sobre el rendimiento de los carotenoides totales en la extracción. Se observó que la concentración de los carotenoides totales aumenta conforme aumenta el tiempo de sonicación, teniendo el máximo rendimiento a los 50 min, esto es debido a la interrupción de las paredes celulares y posterior liberación de los carotenoides retenidos en el interior de la célula al disolvente (Tao & Sun, 2015). Por otra parte, la concentración de carotenoides totales se comporta constante después de los 50 min, alcanzando concentraciones de 93,10 ±0,77 y 94,99± 6,95 mg β-caroteno /100 g de muestra seca para 50 y 60 min respectivamente, esto es debido a la reducción de la velocidad de difusión provocado por el equilibrio osmótico entre el interior y exterior del material (Tao & Sun, 2015). Debido a estos resultados, se determinó que 50 min es el punto central o máximo en la extracción de carotenoides totales presente en la piel de mandarina. Roselló-Soto et al. (2015), reportaron que el tiempo de sonicación óptimo para la extracción de carotenoides en productos de origen vegetal es de 30 min y explica que la degradación de este pigmento en tiempos más largos de extracción (45 a 90 min) es debido a la isomerización de los carotenoides causado principalmente por las condiciones físicas extremas (temperatura y presión) durante el tratamiento ultrasónico. Goula et al. (2017) y Xu & Pan, (2013), reportaron que 30 min es el tiempo óptimo para obtener mayores concentraciones de carotenoides en granada y pomelo rojo respectivamente.

En la figura 8-1 D, se evidencia el efecto del tamaño de partícula sobre el rendimiento de los carotenoides totales en la extracción. Se observó que el tamaño de partícula óptimo que permitió obtener un mayor rendimiento de carotenoides totales en la extracción 71,99

±8,60 mg β-caroteno /100 g de muestra seca es 0,074 mm; a medida que el tamaño de partícula aumenta, disminuye la concentración de los carotenoides totales. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Sun et al. (2011) donde mostraron el mismo tamaño de partícula, como el tamaño óptimo para la extracción de carotenoides totales obtenidos a partir de piel de cítricos. Debido a lo anterior, se fija el tamaño de partícula 0,074 mm para la determinación de puntos centrales o máximos de la extracción. Un tamaño de partícula pequeño significa un área de superficie grande, que puede beneficiar la penetración de la onda ultrasónica en la materia prima y lograr una mayor liberación de componentes internos (Tao & Sun, 2015), debido al aumento de número de células expuestas a la extracción (Athanasia M. Goula et al. 2017); también, la cavitación producida durante el tratamiento ultrasónico conduce a la formación de burbujas en la superficie celular que liberan vapor y conducen al estallido de las paredes celulares; este estallido puede generar poros y micro facturas en la estructura vegetal, el cual genera un efecto de esponja, que facilita la difusión del solvente dentro de la célula y la liberación de los carotenoides retenidos dentro de ella (Benmeziane et al. 2018).

8.2.3 Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en el epicarpio de mandarina

La extracción asistida por ultrasonido de los carotenoides presentes en la piel de mandarina fue optimizada aplicando la metodología de superficie de respuesta diseño central compuesto (DCC) centrado en la cara mediante el software Desing Expert V11.0, que consistió de 20 tratamientos cada uno con 3 repeticiones de los cuales 8 eran factoriales, 6 axiales y 6 repeticiones del punto central. Se fijó el tamaño de partícula en 0,074 mm de acuerdo con los resultados obtenidos anteriormente en la determinación de puntos centrales.

En la tabla 8-6 se muestra el diseño central compuesto (DCC) y los datos obtenidos experimentalmente de la concentración de carotenoides totales (mg β-caroteno /100 g de muestra seca) presente en la piel de mandarina. Se encontró que la concentración de carotenoides totales tuvo una variación entre 65,32±1,57 y 144,93±3,21 y la concentración máxima se registró en el tratamiento 11 con temperatura 50 °C, tiempo 50 min y relación solido-liquido 0,0016 g/ml. Diferentes autores han reportado la variación en la concentración de carotenoides totales en diferentes matrices evaluadas, por ejemplo: Li

et al. (2013) reportaron una variación entre 120,78 y 334,74 mg/l registrando la concentración máxima en la combinación intensidad ultrasónica 22,5 W/cm^{-1}, temperatura 40 °C y tiempo 20 min en zanahoria fresca; Song et al. (2018) registraron una variación entre 49,0 y 344,9 µg/g de muestra seca, registrando la concentración máxima en la combinación potencia 210 W, tiempo 30 min y relación solido-liquido 40:1 g/ml en epicarpio de calabaza (*Curcubita moschata*); Tsiaka et al. (2015) reportaron una variación entre 5,67 y 14,53 mg/100 g de muestra seca, registrando la mayor concentración en la combinación tiempo 16 min, potencia 375 W y relación solido-liquido 1:30 g/ml en residuos de camarón ; Ordóñez-Santos et al. (2015) registraron una variación entre 109,82 y 163,47 mg/100 g de muestra seca, registrando la mayor concentración en intensidad ultrasónica 1528 W/m^2, temperatura 35 °C y tiempo de extracción 30 min en epicarpio de chontaduro; y Ordoñez-Santos et al. (2019) registraron una variación entre 48,41 y 166,43 mg/100 g de muestra seca, evidenciando la mayor concentración en temperatura 45 °C, tiempo de extracción 30 min y relación solido liquido 0,0032 g/ml en epicarpio de chontaduro.

Tabla 8-6: Diseño central compuesto DCC centrado en la cara y datos experimentales.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Relación S/L (g/ml)	Carotenoides totales [1]
1	1	1	1	84,44
2	1	1	-1	135,48
3	0	0	0	97,04
4	1	0	0	102,08
5	1	-1	1	84,44
6	0	0	1	103,13
7	0	0	0	95,78
8	-1	-1	1	65,32
9	-1	0	0	85,07
10	-1	1	-1	129,81
11	0	0	-1	144,93
12	-1	-1	-1	89,48
13	1	-1	-1	120,99
14	0	0	0	98,93
15	0	0	0	97,04
16	-1	1	1	78,98

17	0	0	0	97,36
18	0	-1	0	69,63
19	0	1	0	87,90
20	0	0	0	97,99

[1]Valores promedios ± DS (n=3); Valores expresado en mg β-caroteno mg/100g de muestra seca

En la tabla 8-7 se muestra el análisis de varianza ANOVA para la optimización de la extracción de carotenoides presentes en la piel de mandarina, se observó que el modelo de superficie de respuesta es un modelo cuadrático y altamente significativo ($p<0,0001$). Los términos A, B, C, AB, AC, BC, A^2, B^2, y C^2 del modelo son significativos. La falta de ajuste del modelo no fue significativa ($p=0,0639$) lo que indica que el modelo se adecua a los datos experimentales.

El coeficiente de determinación R^2 (0,9963) y el R^2 cuadrático ajustado (0,9930) es cercano a 1 y el predicho (0,9418) está de acuerdo con el cuadrático ajustado, lo anterior indica una buena correlación entre los valores predichos y valores experimentales del modelo. El coeficiente de variación (CV%) es de 1,77. Adeq Precision mide la relación señal ruido, una relación mayor de 4 es deseable y el modelo tiene una relación de 65,281 lo cual indica una señal adecuada. Debido a lo anterior, con este modelo se puede navegar por el espacio de diseño. La siguiente ecuación de regresión empírica polinómica de segundo orden (8.1), representa la concentración de carotenoides (Y) en función de la temperatura (X1), tiempo (X2) y relación solido-liquido (X3):

$$Y= 97,79835 + 7,87704X1 + 8,67475X2 - 20,43722X3 - 4,93612X1^* X2 - 1,57524X1^*X3 - 5,14656 X2^* X3 - 4,88812 X1^2 \quad (8.1)$$

Tabla 8-7: Análisis estadístico de ANOVA para el modelo polinomial cuadrático ajustado en la optimización de los parámetros de extracción.

Fuente	Suma de cuadrados	df	Suma de Cuadrados	Valor F	Valor p	
Modelo	8110,51	9	901,17	298,35	< 0,0001	significativo
A-Temperatura	620,48	1	620,48	205,42	< 0,0001	
B-Tiempo	752,51	1	752,51	249,14	< 0,0001	
C-Relación S-L	4176,80	1	4176,80	1382,83	< 0,0001	
AB	194,92	1	194,92	64,53	< 0,0001	
AC	19,85	1	19,85	6,57	0,0282	
BC	211,90	1	211,90	70,15	< 0,0001	
A^2	65,71	1	65,71	21,75	0,0009	
B^2	1066,84	1	1066,84	353,20	< 0,0001	
C^2	1797,77	1	1797,77	595,20	< 0,0001	
Residual	30,20	10	3,02			
Lack of Fit	24,65	5	4,93	4,43	0,0639	No significativo
Pure Error	5,56	5	1,11			
Cor Total	8140,71	19				

La representación gráfica tridimensional de superficie de respuesta se muestra en la figura 8-2, en ella se puede observar la interacción de los factores de extracción; temperatura (A), tiempo (B), relación sólido-líquido (C) y su efecto cuadrático positivo sobre el rendimiento de carotenoides totales presentes en epicarpio de mandarina.

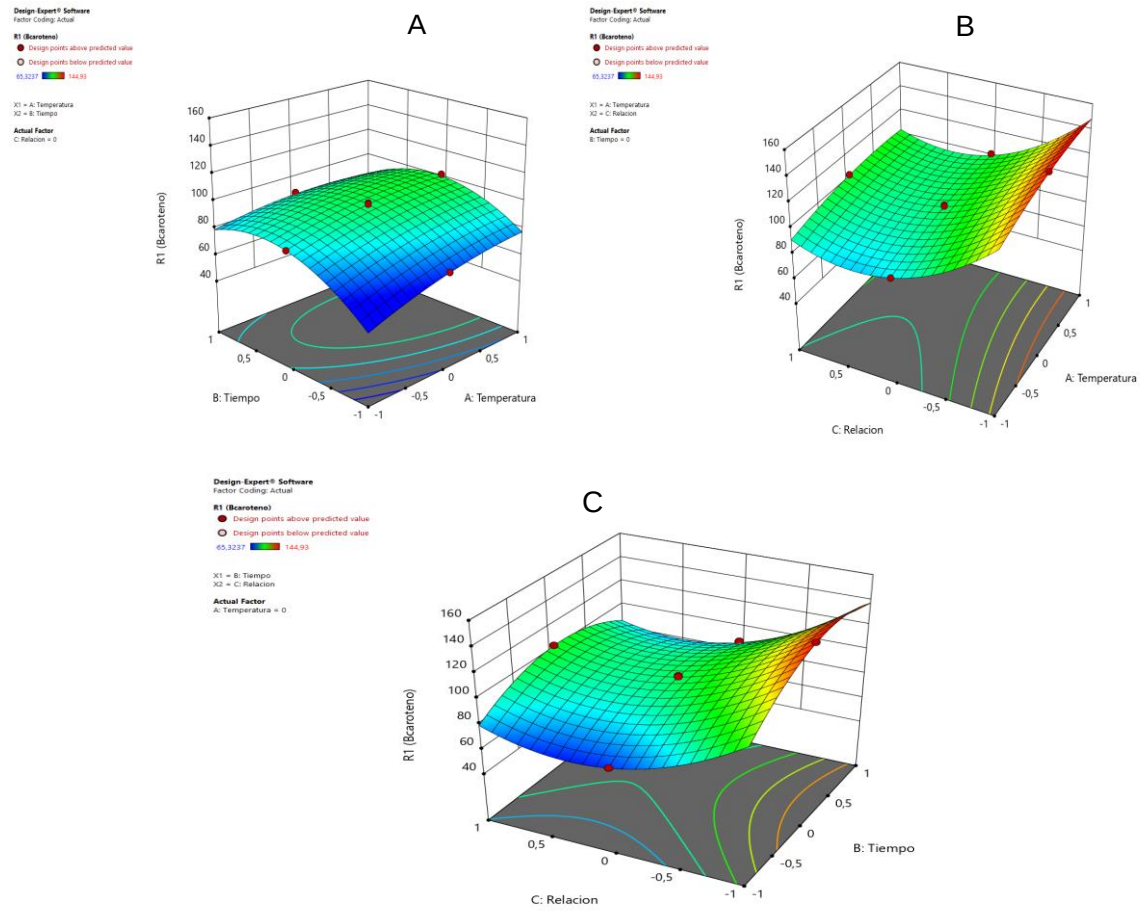
En la figura 8-2 A se ilustra el rendimiento de carotenoides totales con el efecto entre el tiempo (B) y la temperatura (A), se puede observar una mayor concentración de carotenoides totales a una temperatura más alta (+1) debido a que al aumentar la temperatura se provocó la interrupción del cizallamiento, el adelgazamiento de las membranas celulares, la disrupción celular favoreciendo la transferencia de masa (Tiwari,

2015) y reducción de la viscosidad del solvente y aumento de la solubilidad del pigmento, mejorando el proceso de cavitación y al mismo tiempo la eficiencia de la extracción (Ordoñez-Santos et al. 2019; Tao & Sun, 2015). El tiempo necesario para que el ultrasonido pudiera interrumpir la estructura celular y liberar los carotenoides retenidos en el interior para ser trasferidos al solvente a través de ósmosis y la difusión correspondió a un tiempo medio (~0,5), lo que resultó en un mayor rendimiento de extracción (Tao & Sun, 2015; Fengwei Yan et al. 2015).

En la figura 8-2 B se ilustra el rendimiento de carotenoides totales según el efecto interactivo entre relación sólido-líquido (C) y temperatura (A), se puede observar el máximo rendimiento a una relación sólido-líquido más baja (-1) debido a que una menor relación sólido-líquido facilitó la difusión de los carotenoides al medio, debido a una mayor proporción de disolvente que causa una mayor diferencia de concentración de las fases favoreciendo la transferencia de masa (Benmeziane et al. 2018) y temperatura más alta (+1).

Finalmente, en la figura 8-2 C se ilustra el rendimiento de carotenoides totales en función de la relación sólido-líquido (C) y tiempo (B), se puede observar el máximo rendimiento de carotenoides totales a una relación sólido-líquido más baja (-1) y tiempo medio (~0,5). Este resultado concuerda con la interacción de las figuras 8-2 A y B, por lo tanto, el rendimiento máximo se puede obtener a un nivel de temperatura más alta (+1), un nivel de relación sólido-líquido más bajo (-1) y tiempo medio (~0,5). Resultados similares obtuvieron Ordóñez-Santos et al. (2015), donde el aumento del rendimiento de carotenoides totales en la extracción con ultrasonido de residuos de chontaduro se ve influenciado por el aumento de temperatura, tiempo e intensidad ultrasónica. Sin embargo, Benmeziane et al. (2018) encontraron que el aumento del tiempo ultrasónico tiene un efecto negativo en el rendimiento de extracción con ultrasonido de carotenoides totales en residuos de melón.

Figura 8-2: Gráficos de superficie de respuesta sobre el rendimiento de extracción de carotenoides totales (mg β-caroteno/ 100 g de muestra seca) presente en piel de mandarina en relación con los efectos de Temperatura, Tiempo y Relación solido-liquido. (A) Temperatura (°C) vs Tiempo (min); (B) Temperatura (°C) vs Relación s/l (g/ml); (C) Tiempo (min) vs Relación s/l (g/ml).



El objetivo deseado para la optimización de cada factor de extracción temperatura, tiempo y relación solido-liquido se definió como máximo, mínimo y mínimo respectivamente, mientras que la variable de respuesta Carotenoides totales (mg de β-caroteno/100 g materia seca) se definió como máxima con el fin de lograr obtener un mayor rendimiento. Según las predicciones realizados por el software Desing Expert V11.0, las condiciones óptimas de la extracción asistida por ultrasonido de carotenoides presentes en la piel de mandarina fueron: Temperatura 60 °C (1), Tiempo 43 min (-0,735437) y Relación solido-liquido 0,0016 g/ml (-1); con estos parámetros optimizados, se debe de obtener una

concentración de carotenoides de 131,18 mg/100 g de muestra seca. Se ha reportado condiciones óptimas de extracción asistida con ultrasonido utilizando aceite de girasol como solvente de extracción, como los obtenidos por Goula et al. (2017), Ordóñez-Santos et al. (2015) y Li et al. (2013); los autores anteriores informaron valores que fueron óptimos en la extracción de carotenoides a una temperatura de 51,5 °C, tiempo 30 min y un nivel de amplitud de 58,8 % presentes en residuos de granada, una intensidad ultrasónica de 1528 W/cm^2, tiempo de 30 min y temperatura de 35 °C en residuos de chontaduro y una intensidad ultrasónica de 22,5 W/cm^2, temperatura de 40 °C y tiempo de 20 min en restos de zanahoria, respectivamente. Yan et al. (2015) reportaron que la temperatura 49,6 °C, tiempo 48,5 min y potencia 252,9 W fueron óptimos en la extracción de carotenoides presentes en colza utilizando éter de petróleo/acetona (V / V) como solvente, mientras que Benmeziane et al. (2018) reportaron un tiempo de 10 min en residuos de melón utilizando acetato de etilo como solvente.

Para confirmar estos resultados predichos con valores experimentales, se realizó una validación con 5 repeticiones de las condiciones optimizadas, se encontró que la concentración promedio de carotenoides fue de 129,30±2,56 mg/100 g de muestra seca, este resultado no mostró una diferencia significativa ($p>0,05$) con el valor registrado en la optimización. Además de la extracción por ultrasonido, se realizó con el método convencional (maceración) con los parámetros de temperatura 4 °C, tiempo 48 h y relación sólido-líquido 0,0016 g/ml, cuyo valor fue de 106,24±2,78 mg/100 g de muestra seca; La diferencia entre la extracción optimizada y la convencional fue muy significativa ($p=0,000$) según prueba de T-Student. Estos resultados muestran que la técnica de extracción por ultrasonido en comparación con el método convencional supera el rendimiento en un 21,7% y reduce el tiempo de 48 h a 43 min. Resultados similares fueron reportados por Li et al. (2013) encontrando que la maceración en aceite produjo menos concentración de carotenoides que la extracción con ultrasonido de zanahoria fresca. Los beneficios del ultrasonido se derivan de sus efectos mecánicos en el proceso al aumentar la penetración del solvente en el producto debido a la interrupción de las paredes celulares producidas por la cavitación acústica (Rastogi, 2011).

8.3 Segundo objetivo: "Evaluar la estabilidad térmica de los extractos carotenoides obtenidos de la piel de mandarina como fuente de colorante natural en productos de panificación"

Es importante indicar que se llevaron a cabo experimentos preliminares con el fin de identificar la concentración de extracto de la piel de mandarina optimizado en el punto 8.2.3, a ser utilizado en cada uno de los productos de panificación evaluados. Se estableció la concentración de extracto evaluado en cada producto horneado que reportó la menor diferencia de color (ΔE*) en miga fue de 15,22 g / 100 g de masa en galleta, 6,48 g / 100 g de masa en torta y 3,61 g / 100 g de masa en pan, frente al control con tartrazina en concentraciones de 2,53 mg / 100 g de masa en galleta, 0,81 mg / 100 g de masa en torta y 0,45 mg / 100 g de masa en pan. Valores que se fijaron en adelante para establecer la cinética de degradación de los carotenoides presentes en los productos en mención.

8.3.1 Aplicación del extracto oleoso de piel de mandarina en productos de panificación

En la tabla 8-8, se pueden ver los valores del contenido de carotenoides y los valores de la diferencia de color (ΔE*) de la miga en los productos de panificación enriquecidos con extracto oleoso de carotenoides presente en la piel de mandarina frente a los productos de panificación control con tartrazina. Se observa en todos los casos un aumento significativo ($p<0,05$) en la concentración de los carotenoides en los productos formulados con el extracto respecto al control. En la galleta control no se detectó presencia de carotenoides, esto puede ser debido a la ausencia de huevo en la formulación de la galleta; el huevo además de aportar color amarillo al producto, eleva el valor nutricional debido a los altos contenidos de carotenoides que posee y por esta razón, los productos de pan y torta de control y con extracto presentan valores de carotenoides más elevados que la galleta (Porto Dalla Costa et al. 2016).

Tabla 8-8: Contenido de carotenoides en los productos de panificación.

Producto		β-Caroteno	α-Caroteno	β-Criptoxantina	Zeaxantina	Licopeno	ΔE Miga
Galleta	Control 0,005g	--	--	--	--	--	CE
	Extracto 30g	1,72±0,11	1,14±0,05	0,49±0,10	0,48±0,10	--	4,72±1,65
	T-Student	***	***	**	**	**NS**	**N/A**
Pan	Control 0,0025g	2,07±0,29	1,03±0,24	2,51±0,49	2,49±0,49	1,24±0,28	CE
	Extracto 20g	4,21±0,24	4,00±0,20	5,02±0,30	4,98±0,30	2,74±0,07	2,15±0,36
	T-Student	**	***	**	**	**	**N/A**
Torta	Control 0,0025g	0,44±0,17	0,91±0,16	1,51±0,21	1,49±0,21	1,29±0,25	CE
	Extracto 20g	2,52±0,03	1,49±0,12	2,04±0,11	2,02±0,11	2,30±0,06	2,81±1,26
	T-Student	*	*	*	*	*	**N/A**

Valores promedios ± DS(n=3); Valores expresados en µg/g; (--) no hay concentración de carotenoides; (*) significativo p<0,05; (**) significativo p<0,01; (***) significativo p<0,001; (NS) no hay diferencias significativas; para dos muestras; ΔE no aplica para prueba T-Student.

La torta presentó una menor concentración de carotenoides en comparación con el pan; estas diferencias pueden ser generadas por la acción de la temperatura de horneado (215 °C), otra explicación puede ser que los carotenoides son susceptibles al oxígeno así como la actividad enzimática endógena y sus pérdidas durante la preparación de la masa tienen lugar debido a la presencia de enzimas oxidativas , como lipoxigenasa , peroxidasa y polifenol oxidasa , en la harina, que se activan cuando se agrega agua y se incorpora oxígeno durante el proceso de amasado, la lipoxigenasa cataliza la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, lo que conduce a la posterior oxidación de los pigmentos carotenoides (Martínez-Girón, Figueroa-Molano, & Ordóñez-Santos, 2017; Nogueira et al. 2018; Paznocht, Kotíková, Orsák, Lachman, & Martinek, 2019). El uso del aceite pigmentado además de ser portador de pigmento y provitamina A, sirve como una fuente de energía lipídica, de igual manera, la adición del aceite enriquecido con carotenoides en los productos galleta, pan y torta puede incrementar la

densidad de los ácidos grasos mono y poliinsaturados, como el omega-3 y el omega-9, siendo factores beneficiosos para la protección contra las enfermedades cardiovasculares, cáncer y degeneración macular (Infante et al. 2017; Luis Eduardo Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019). Por otra parte, los productos enriquecidos con el extracto mostraron valores ΔE en miga de 4,72±1,65 en galleta, 2,15±0,36 en pan y 2,81±1,26 en torta, autores como Nogueira et al. (2018), afirman que los valores de ΔE cercanos a cero indican que las formulaciones presentan características similares al control, mientras que las diferencias mayores a 2 pueden significar una diferencia entre ambos tratamientos notablemente visible. Estos resultados obtenidos presentan valores de ΔE cercanos a 2, esto puede indicar un posible potencial colorante del extracto oleoso de epicarpio de mandarina como sustituto del colorante artificial tartrazina en productos de panificación.

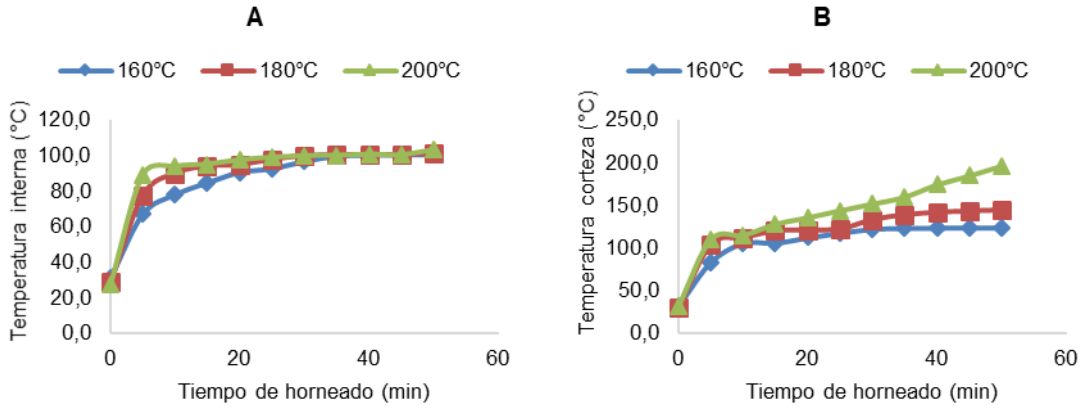
8.3.2 Perfil de temperatura en los productos horneados

Los perfiles de temperatura de la miga y corteza durante los procesos de cocción del pan bajo las tres temperaturas estipuladas 160 °C, 180 °C y 200 °C se muestran en la figura 8-3. Se observó que el aumento de la temperatura de la miga del pan sigue un patrón sigmoidal, aumenta gradualmente hasta volverse constante a 100 °C. Este fenómeno se puede explicar debido a que la miga homogénea formada por la gelatinización completa del almidón es un deficiente conductor térmico (Clark, 2009) y al fenómeno de evaporación-condensación de agua generada en el centro del producto (Nicolas et al. 2014). Este resultado concuerda con Sui, Yap, & Zhou, (2015), los autores determinaron un patrón sigmoidal con un punto de inflexión de alrededor de 50 °C y un aumento gradual de temperatura hasta alcanzar una temperatura constante de 100 °C en miga de pan enriquecido con polvo de arroz negro rico en antocianinas.

Al inicio del horneado, la temperatura de la corteza es menor a 100 °C, en este punto, no se produce vaporización por ebullición, la producción de vapor de agua en los poros por evaporación se considera despreciable y la temperatura aumenta debido al flujo de calor entrante, en la segunda fase de horneado es cuando la temperatura de la corteza es mayor a 100 °C, en este punto, se alcanza la temperatura de ebullición y la materia entra en el régimen de ebullición, el agua líquida se convierte en vapor de agua hasta que se termina (Papasidero, Manenti, & Pierucci, 2015). Una vez evaporada completamente el agua líquida, la temperatura de la corteza comienza a subir acercándose a la temperatura del

horno (Papasidero, Manenti, & Pierucci, 2015). Esto explica el comportamiento del perfil de temperatura de la corteza del pan, donde la mayor parte de la energía suministrada en la etapa inicial del horneado, se utilizó para aumentar la temperatura de la corteza, alcanzando temperaturas mayores de 100 °C en los primeros 10 min. Posteriormente se deriva un aumento gradual de la temperatura, en este punto, se usa la energía térmica para mover el frente de evaporación hacia adentro de la masa y formar la corteza (Zhang et al. 2016).

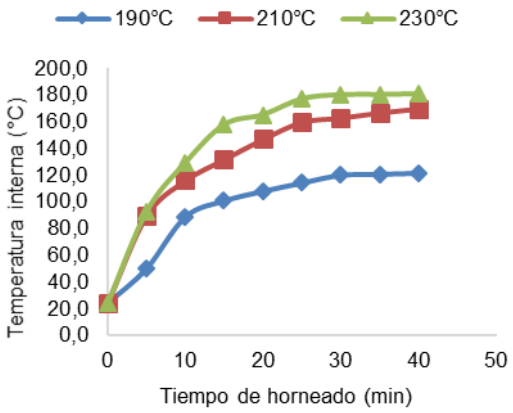
Figura 8-3: Perfil de temperatura de la miga (A) y corteza (B) durante la cocción del pan.



El perfil de temperatura de miga de torta durante el proceso de horneado a 190 °C, 210 °C y 230 °C se presenta en la figura 8-4. Se observó un rápido aumento de la temperatura central los primeros 20 min de cocción, y un aumento gradual pasado este tiempo. El aumento de la temperatura interna de la torta está asociada a varias reacciones químicas y fenómenos físicos como la gelatinización completa del almidón y la desnaturalización de proteínas que son responsables de la transformación de la masa de la torta en una estructura porosa solida (miga) y la expansión del volumen del producto, esto se empieza a lograr cuando la temperatura del producto alcanza entre 95 a 98 °C (Ureta, Olivera, & Salvadori, 2014). Al final del horneado, la temperatura central de la miga en torta alcanzo valores de 121,6 °C, 170,0 °C y 180 °C a temperaturas de horneado de 190 °C, 210 °C y 230 °C respectivamente. Estos resultados difieren a los obtenido por (Ureta et al. 2014; Ureta, Olivera, & Salvadori, 2016), los autores demostraron que la temperatura interna de

muffin se estabiliza en un valor de 100°C en diferentes condiciones operativas de horneado como convección forzada, convección forzada asistida por vapor de 140 a 220 °C y convección natural y forzada a temperaturas de horneado de 140 a 180 °C respectivamente.

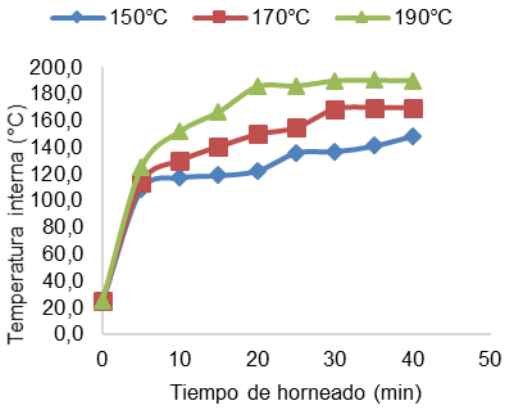
Figura 8-4: Perfil de temperatura de la miga durante la cocción en torta.



En la figura 8-5 se puede observar el perfil térmico de la galleta durante el proceso de horneado a temperaturas de 150 °C, 170 °C y 190 °C respectivamente. Se puede distinguir tres etapas: la primera se caracterizó por el calentamiento y aumento rápido de la temperatura interna de las galletas, la masa cruda pasa de 25 °C a 108,8 °C, 114,0 °C y 125,1 °C los primeros 5 min de horneado a temperaturas de 150 °C, 170 °C y 190 °C respectivamente. En la segunda etapa se observó un aumento gradual de la temperatura interna alcanzando valores de 136 °C, 155 °C y 190 °C a 150 °C, 170 °C y 190 °C respectivamente. Finalmente, la tercera etapa de horneado se caracterizó por un aumento asintótico de la temperatura alcanzando valores cercanos a la del horno. Este comportamiento puede ser explicado debido a que, durante la primera fase de horneado, empieza a ocurrir la gelatinización del almidón y a formarse un frente de evaporización del agua hacia el núcleo de la galleta; a medida que aumenta la temperatura en el interior, el frente de evaporación avanza y se vuelve progresivo generando la corteza y al mismo tiempo alcanzando una temperatura del horno asintóticamente (Purlis, 2010). Este resultado concuerda con los obtenidos por (Lara, Cortés, Briones, & Perez, 2011), los

autores obtuvieron un comportamiento similar del perfil térmico en galletas de maíz horneadas a 190 °C, 210 °C, 230 °C y 250 °C.

Figura 8-5: Perfil de temperatura de la miga durante la cocción en galleta.

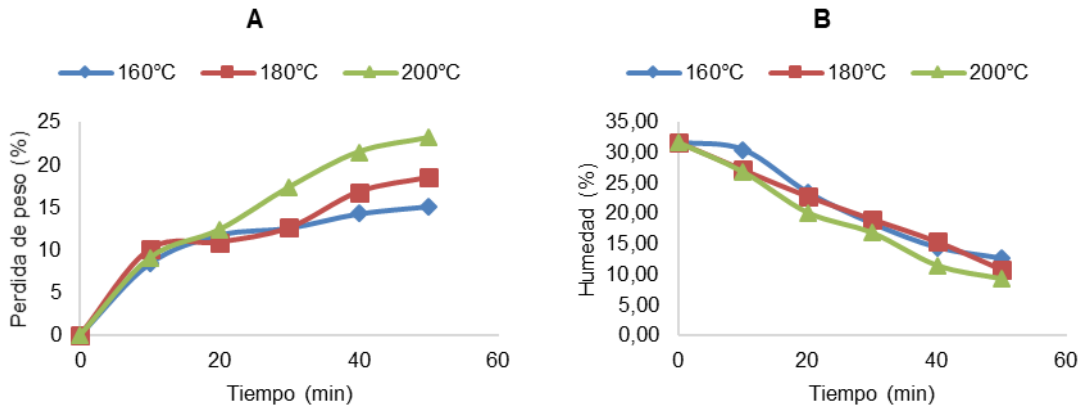


.

8.3.3 %Pérdida de peso y %humedad de los productos horneados

En la figura 8-6 se evidencia una tendencia de meseta inicial en el %humedad y una tendencia de meseta después de 20 min de cocción en el % pérdida de peso en el pan. Esto puede ser debido al calentamiento inicial del pan cuando la temperatura de la superficie es inferior a 100 °C, después de 10 min, ocurre la parte más importante del proceso de secado y la pérdida del %peso y el contenido de % humedad parece ser casi lineal hasta el final de la cocción. Al final del horneado, el pan presenta un % pérdida de peso de 15,11±1,55%, 18,49±0,16% y 23,14±0,19% y un contenido de % humedad de 12,60±0,17%, 10,87±0,15% y 9,26±0,06% a temperaturas de horneado de 160 °C, 180 °C y 200 °C respectivamente. Estos resultados difieren a los obtenidos por Sui, Yap, & Zhou, (2015) en pan formulado con harina de arroz negro rico en antocianinas horneado a 200 °C, 220 °C y 240 °C, los autores ilustraron que él % de humedad en la miga y corteza del pan no se vio afectado por las diferentes temperaturas de cocción.

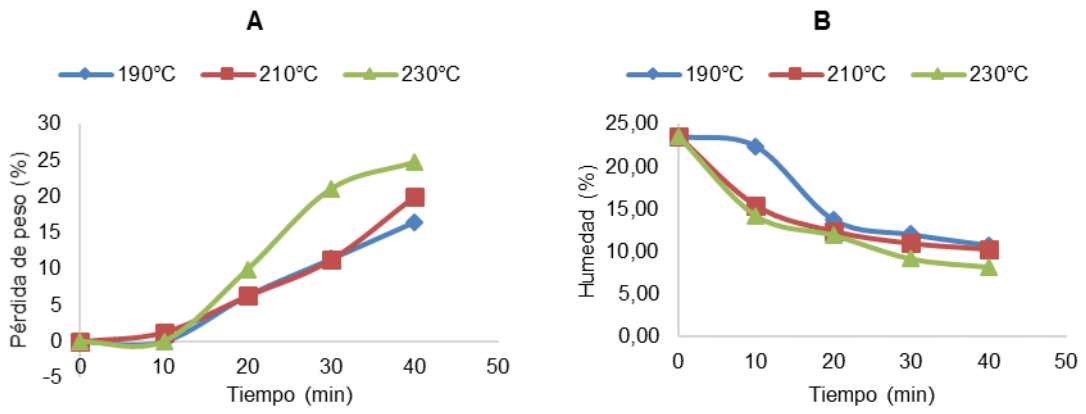
Figura 8-6: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en pan.



En la figura 8-7, existe una tendencia lineal en el aumento de % pérdida de peso después de 20 min de horneado y una tendencia de meseta inicial en la disminución del contenido de % humedad en torta. Los resultados obtenidos de % pérdida de peso concuerdan con los obtenidos por Ureta et al. (2014) donde se observa un aumento a medida que aumenta la temperatura de horneado en masa de muffin, caso contrario ocurrió en el contenido de % humedad, donde el autor evidenció que la miga no se vio afectada por la temperatura del horno.

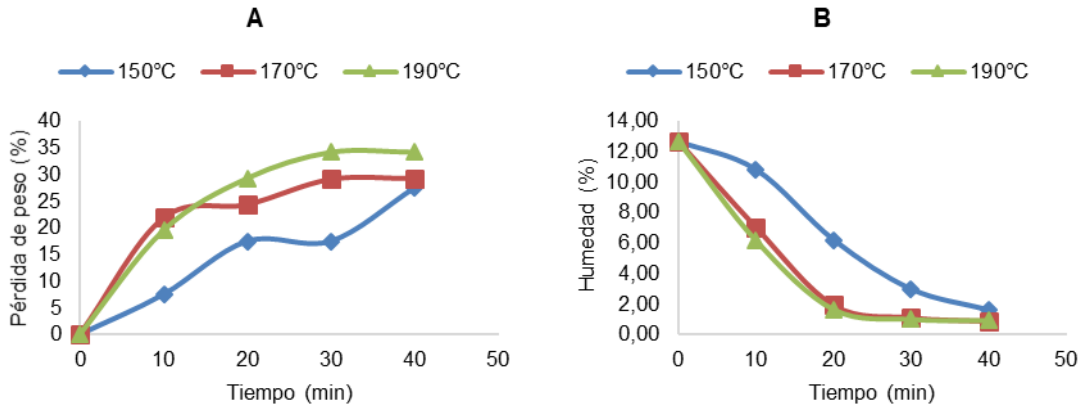
La tendencia del % pérdida de peso en las temperaturas de 190 °C y 210 °C fue similar hasta alcanzar los 30 min de cocción, pasado este tiempo a 210 °C aumentó hasta alcanzar un valor de 20,00±2,5% al final del horneado. La mayor pérdida de % peso se evidenció en la torta horneada a 230 °C, alcanzando un valor de 24,66±2,16%; esto puede ser debido, a una mayor evaporación del agua libre presente en la corteza como consecuencia de la elevada temperatura de horneado, provocando una disminución del contenido de humedad y por lo tanto una mayor %pérdida de peso (Purlis & Salvadori, 2009). Los primeros 10 min de horneado en las tres temperaturas no se evidenció una pérdida significativa en el %pérdida de peso, esto puede ser debido, a que, al principio de la cocción, el producto es un medio con una porosidad esencialmente cerrada (las burbujas de gas no están interconectadas) y la transferencia de masa de gas esta desactivada (Nicolas et al. 2014).

Figura 8-7: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en torta.



En la figura 8-8, hay un aumento gradual del % pérdida de peso a medida que aumenta la temperatura de horneado y una disminución con una tendencia casi lineal del contenido de % humedad en galleta. En las temperaturas de horneado 170 °C y 190 °C el comportamiento del % humedad es lineal hasta alcanzar 20 min de cocción, pasado este tiempo hay una ligera disminución. Este fenómeno podría ser explicado debido a la disminución de la transferencia de masa provocado por la deshidratación y por consiguiente a la rápida formación de la capa seca superficial de la galleta (corteza), (Lara et al. 2011).

Figura 8-8: %pérdida de peso (A) y contenido de %humedad (B) en galleta.



En todos los casos, se puede justificar que la pérdida de agua es la responsable del % pérdida de peso y del contenido de % humedad en los productos horneados (Papasidero

et al. 2015). La pérdida de agua durante el proceso de horneado se da en la segunda etapa o fase líquida, a medida que aumenta la temperatura y se libera dióxido de carbono, el volumen de los poros se vuelve significativamente más grandes y aparecen interconexiones, como consecuencia, la transferencia de masa en la fase de gas es más consistente (Nicolas et al. 2014).

8.3.4 Cinética de degradación de carotenoides

En este estudio se encontró que los modelos cinéticos de primer orden presentan valores de coeficiente de correlación (R^2) en un rango que va de 0,83 a 1 como se ilustran en las figuras 8-9, 8-10 y 8-11 en los productos horneados torta, galleta y pan respectivamente, lo que indica que la cinética de degradación de primer orden puede explicar los cambios de la concentración de carotenoides en los productos horneados.

Hasta la fecha, no se encuentra reportado en la literatura estudios similares sobre la degradación de carotenoides en productos horneados. Sin embargo, se ha observado una cinética de degradación de carotenoides de primer orden en diferentes productos como se informó para luteína, α-caroteno, β-caroteno, zeaxantina, β-criptoxantina y carotenoides totales en harina integral de einkorn cv. Monlis y harina de trigo blanca almacenadas entre -20 y 38 °C (Hidalgo & Brandolini, 2008); licopeno en aceite de semilla de girasol y aceite de semilla de uva almacenadas entre 10 y 40 °C (Zuorro, Lavecchia, González, & Kafarov, 2018); carotenoides individuales como *E* -β-caroteno, todos- *E* -α-caroteno y *E* –luteína y carotenoides totales en calabazas deshidratadas almacenadas en condiciones de atmosferas controladas entre 4 y 40 °C (Song et al. 2018); violaxantina, anteraxantina, luteína, β-criptoxantina , 13-cis- β –caroteno, trans- β –caroteno , 9-cis- β –caroteno y carotenoides totales en albaricoques secos entre 50 y 70 °C (Fratianni et al. 2017); β –caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno en jugo de tomate de árbol pasteurizado entre 70 y 90 °C (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019); entre otros.

El contenido inicial de β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno en la masa sin hornear en torta fue de 2,45, 2,76, 1,84, 1,82 y 1,03 µg/g, en galleta fue de 1,77, 1,94, 1,25, 1,24 y 0,75 µg/g y en pan fue de 2,88, 2,74, 1,70, 1,69 y 0,73 µg/g respectivamente. En todos los productos se evidenció la degradación significativa ($p<0,05$) de los carotenoides conforme aumenta el tiempo y la temperatura de horneado, excepto el

licopeno que presentó una degradación significativa ($p>0,05$) a partir de los 20 min a 190 °C en galleta y en pan a partir de los 40 min a 160 °C y 20 min a 180°C. En la galleta se pudo observar una degradación total de β-caroteno a 40 min de horneado a 170 y 190 °C, α-caroteno a los 40 min de horneado a 170 °C y a 30 min de horneado a 190 °C y licopeno cuando pasaron 30 min a 150 °C y 20 min a 170 y 190 °C, carotenoides como β-criptoxantina y zeaxantina presentaron una degradación total a 40 min de horneado a 150 °C, 30 min de horneado a 170 °C y 20 min de horneado a 190 °C.

Figura 8-9: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en torta.

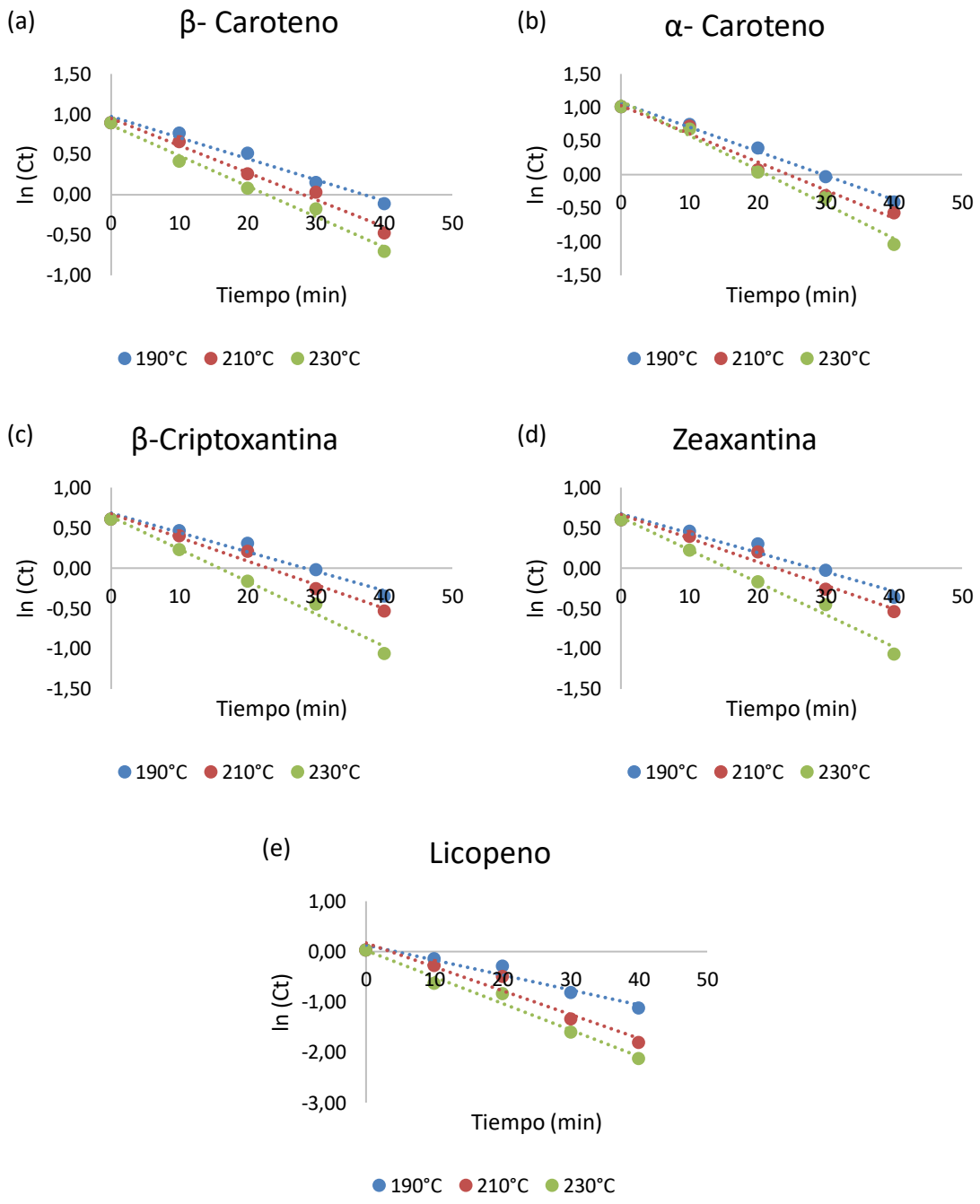


Figura 8-10: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en galleta.

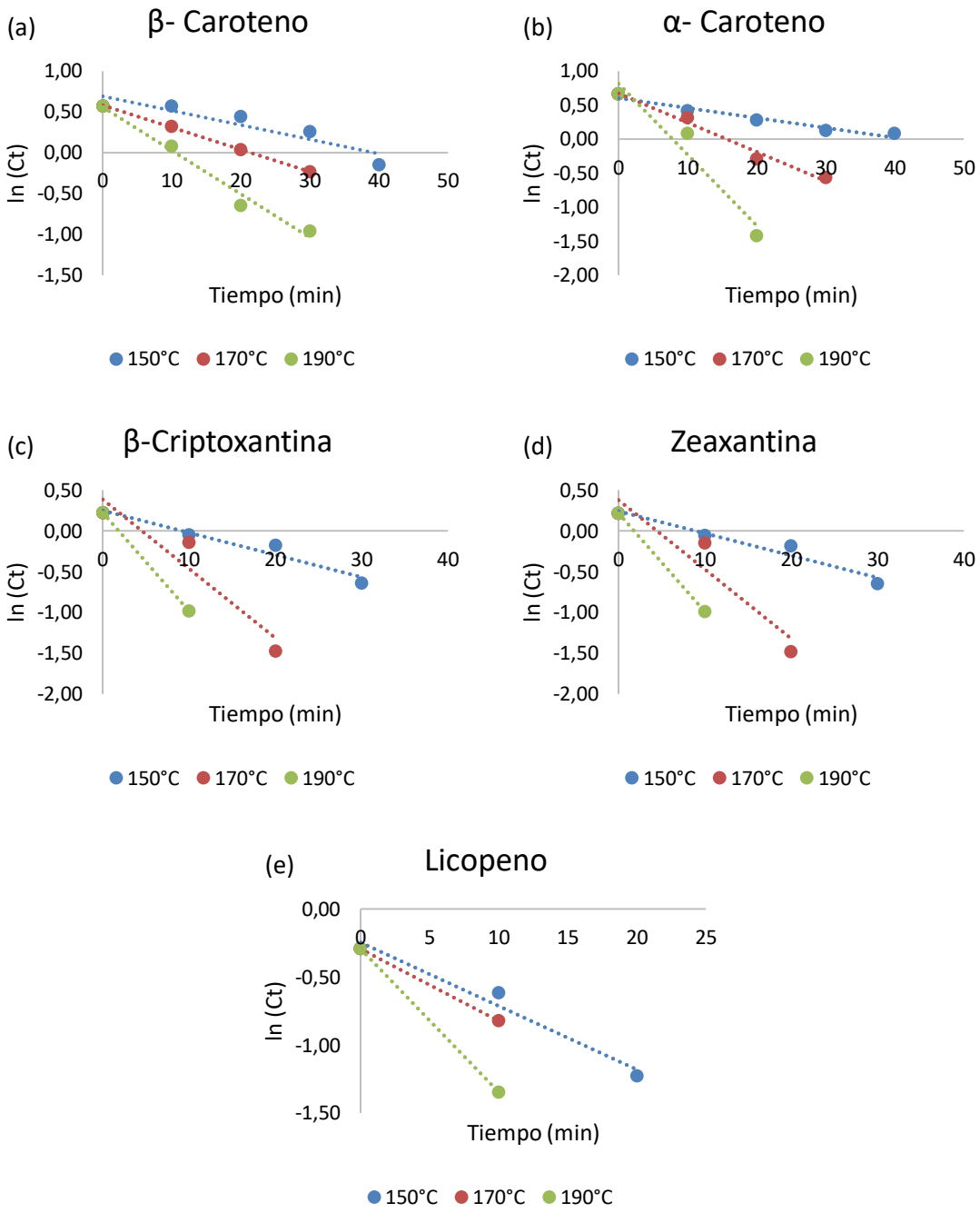
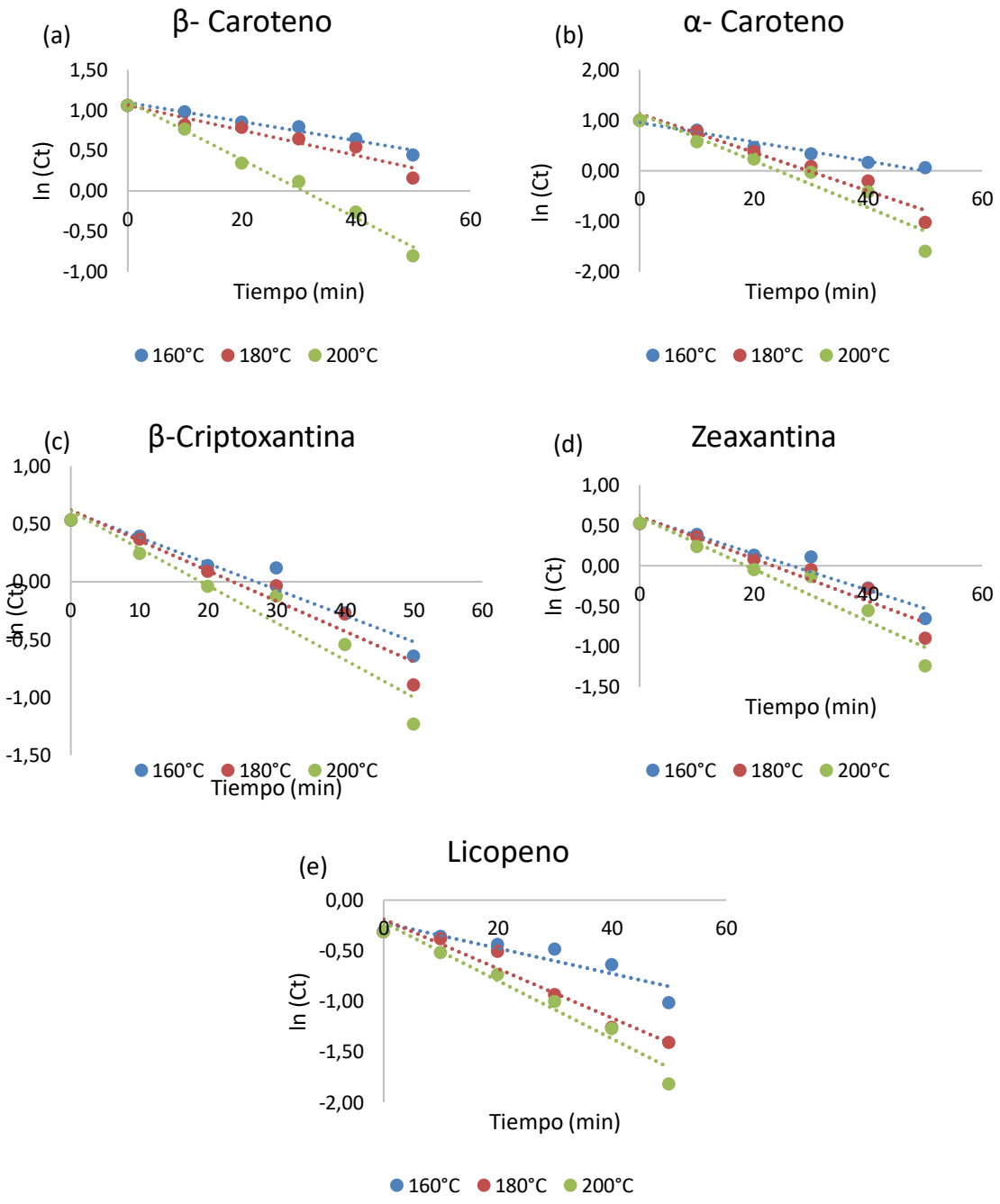


Figura 8-11: Cinética de degradación térmica de carotenoides β-caroteno (a), α-caroteno (b), β-criptoxantina (c), zeaxantina (d) y licopeno (e) durante el horneado en pan.



Las constantes de velocidad de reacción de degradación (k), el tiempo de reducción decimal (D), los periodos de vida media ($t_{1/2}$), coeficiente de temperatura (Q_{10}) y el coeficiente de resistencia térmica (z) se presentan en las tablas 8-9, 8-10 y 8-11 en torta, galleta y pan respectivamente. Las constantes de degradación (k) mostraron una evidente dependencia de la temperatura, ya que los valores de k aumentaron a medida que aumentaba la temperatura en todos los casos, estos resultados corroboran la hipótesis que cuanto mayor es la temperatura, mayor es la degradación de los carotenoides (Giménez, Fernández-López, Angosto, & Obón, 2015; Hidalgo & Brandolini, 2008). Los aumentos en las constantes de degradación (k) en los pigmentos estudiados fueron mayores para galleta en comparación con la torta y pan. Los carotenoides son pigmentos con estructuras fuertemente insaturadas y la degradación se debe a que son muy susceptibles a la oxidación, isomerización y modificaciones químicas durante el procesamiento y almacenamiento (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2020), la degradación de estos compuestos también podría depender de la estructura y la organización celular de los carotenoides en la matriz alimentaria, actividad de agua, pH, presencia de oxígeno y las interacciones con otros antioxidantes (Fratianni et al. 2017).

Los valores del tiempo de reducción decimal (D) disminuyo conforme aumento la temperatura de horneado en todos los productos de panificación, este comportamiento fue similar al mostrado por Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020), los autores reportaron valores de D que variaron de 173,13 a 54,69 min para β- caroteno, 195,13 a 50,83 min para α- caroteno, 118,08 a 83,13 para β-criptoxantina, 145,73 s 62,74 para zeaxantina y 75,49 a 52,45 para licopeno en jugo de tomate de árbol tratado térmicamente entre 70 y 90°C. En todos los casos, los valores de vida media ($t_{1/2}$) disminuían acompañadas de valores altos de K a medida que aumentaba la temperatura. Los tiempos de vida media más largos para todas las temperaturas fueron: β- caroteno, β-criptoxantina y zeaxantina en torta; β- caroteno y α- caroteno en galleta; y β- caroteno y licopeno en pan. Esto concuerda con Giménez et al. (2015), los autores informaron que el β- caroteno es el carotenoide más termo resistente ya que presentó la mejor estabilidad al calor con un $t_{1/2}$ de 141.5 h a 90°C frente la cúrcumina (6 veces mayor), riboflavina (22 veces mayor) y opuntia betaxantina (69 veces mayor). Por otra parte, los valores de vida media más cortos se presentaron en licopeno de 13,17 y 6,58 min a 230 y 190 °C en torta y galleta respectivamente y α- Caroteno de 14,98 a 200 °C en pan. Esto concuerda con los

resultados de Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020), los autores observaron la vida media más corta para licopeno 15,79 min a 90 °C en jugo de tomate de árbol.

Los valores de Q_{10} se encontraron en el rango de 1.09 a 1.15 en torta, 1.23 a 1.64 en galleta y 1.09 a 1.32 en pan en las diferentes de temperatura de horneado. Estos resultados revelaron que el carotenoide más susceptible al aumento de la temperatura de horneado es licopeno (1,15 °C) para torta, α-caroteno (1,64 °C) para galleta y β-caroteno (1,32 °C) para pan. Esto concuerda con Song et al. (2018) que observaron que el β-caroteno y α-caroteno en calabazas deshidratadas fueron más susceptibles a degradarse con el aumento de temperatura durante varias condiciones de almacenamiento y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020) que determinaron que el α-caroteno y β-caroteno son los pigmentos más sensibles a degradarse durante el tratamiento térmico en jugo de tomate de árbol. Los valores de Z (°C) más altos se obtuvieron para α-caroteno (263,42), licopeno (113,39), β-Criptoxantina y zeaxantina (258,43) en torta, galleta y pan respectivamente, esto indica que estos pigmentos tienen el nivel más alto de termo resistencia y por lo tanto son menos sensibles a la degradación por isomerización (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019) en el rango de temperatura de 190 a 230 °C, 150 y 190 °C y 160 y 200 °C respectivamente.

Tabla 8-9: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en torta entre 190 y 230°C

Compuesto	T (°C)	K (min^{-1})	R^2	D (min)	t ½ (min)	Q_{10} (190-230°C)	Z (°C)
β- Caroteno	190	0,0262	0,98	87,97	26,48	1,10	249,91
	210	0,0336	0,98	68,47	20,61		
	230	0,0378	0,99	60,85	18,32		
α- Caroteno	190	0,0361	0,99	63,76	19,19	1,09	263,42
	210	0,0419	0,98	54,92	16,53		
	230	0,0512	0,99	44,95	13,53		
β-Criptoxantina	190	0,0240	0,96	95,77	28,83	1,14	179,42
	210	0,0293	0,97	78,53	23,64		
	230	0,0402	0,99	57,31	17,25		
Zeaxantina	190	0,0240	0,96	95,77	28,83	1,14	179,42
	210	0,0293	0,97	78,53	23,64		

	230	0,0402	0,99	57,31	17,25		
Licopeno	190	0,0297	0,95	77,45	23,32	1,15	161,28
	210	0,0474	0,95	48,60	14,63		
	230	0,0526	0,98	43,75	13,17		

Tabla 8-10: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en galleta entre 150 y 190°C

Compuesto	T (°C)	K (min^{-1})	R^2	D (min)	t ½ (min)	Q_{10} (150-190°C)	Z (°C)
β- Caroteno	150	0,0176	0,85	130,67	39,33	1,32	83,18
	170	0,0271	0,99	84,82	25,53		
	190	0,0533	0,98	43,18	13,00		
α- Caroteno	150	0,0146	0,95	158,06	47,58	1,64	46,79
	170	0,0429	0,98	53,61	16,14		
	190	0,1043	0,94	22,07	6,65		
β-Criptoxantina	150	0,0272	0,95	84,73	25,51	1,45	61,77
	170	0,0849	0,90	27,13	8,17		
	190	0,1207	1,00	19,07	5,74		
Zeaxantina	150	0,0272	0,95	84,73	25,51	1,45	61,77
	170	0,0849	0,90	27,13	8,17		
	190	0,1207	1,00	19,07	5,74		
Licopeno	150	0,0467	0,97	49,26	14,83	1,23	113,39
	170	0,0529	1,00	43,52	13,10		
	190	0,1053	1,00	21,86	6,58		

Tabla 8-11: Parámetros cinéticos obtenidos para la degradación térmica de los carotenoides en pan entre 160 y 200°C.

Compuesto	T (°C)	K (min^{-1})	R^2	D (min)	t ½ (min)	Q_{10} (160-200°C)	Z (°C)
β- Caroteno	160	0,0118	0,97	195,68	58,91	1,32	82,36
	180	0,0155	0,92	148,59	44,73		
	200	0,0360	0,99	63,95	19,25		
α- Caroteno	160	0,0191	0,96	120,30	36,21	1,25	104,35
	180	0,0382	0,95	60,27	18,14		
	200	0,0463	0,92	49,76	14,98		

β-Criptoxantina	160	0,0225	0,94	102,13	30,74	1,09	258,43
	180	0,0262	0,93	87,87	26,45		
	200	0,0322	0,93	71,51	21,53		
Zeaxantina	160	0,0225	0,94	102,13	30,74	1,09	258,43
	180	0,0262	0,93	87,87	26,45		
	200	0,0322	0,93	71,51	21,53		
Licopeno	160	0,0126	0,83	182,94	55,07	1,23	111,66
	180	0,0244	0,95	94,27	28,38		
	200	0,0287	0,96	80,18	24,14		

En la figura 8-12, se muestra el logaritmo natural de la tasa de degradación (Ln(k)) de los carotenoides analizados en torta, galleta y pan en el rango de temperatura de 190-230 °C, 150-190 °C y 160-200 °C respectivamente, la concentración de carotenoides se vio afectado por la temperatura y encaja en el modelo de Arrhenius. La energía de activación (E_a) se determinó calculando la pendiente del comportamiento lineal de Ln (k) en función de la inversa de la temperatura (1/T) (figura 8-12). Los valores del coeficiente de correlación (R^2) oscilaron entre 0,84 y 1, por lo tanto, estos valores pueden explicar adecuadamente la determinación de este parámetro en cada uno de los casos. La E_a se define como el requisito mínimo de energía que se debe cumplir para que ocurra una reacción química cuando aumenta la temperatura, esto quiere decir que valores mayores de E_a, la velocidad de reacción es más sensible a los cambios de temperatura, por lo que un cambio de temperatura pequeño es suficiente para la degradación de los carotenoides (Giménez et al. 2015).

En las tablas 8-12, 8-13 y 8-14 se muestra la estimación de los parámetros termodinámicos de energía de activación (E_a), entalpia de activación (ΔH), energía libre de Gibbs (G) y la entropía de activación (S) a diferentes temperaturas de horneado en torta, galleta y pan respectivamente. Los valores de E_a de los pigmentos carotenoides en los productos horneados oscilaron entre 16,88 y 27,87 kJ/mol en torta, 32,70 y 80,20 kJ/mol en galleta y 15,13 y 47,22 kJ/mol en pan. La comparación de estos resultados con los informados en la literatura es algo difícil, porque están implicados diferentes sustratos, y temperaturas (Hidalgo & Brandolini, 2008). Estos resultados de E_a son similares a los encontrados en la literatura científica para carotenoides en diferentes matrices alimentarias, como los

observados por: Song et al. (2018) en calabazas deshidratadas almacenadas a 4, 25 y 40°C, con valores de E_a de 21.53 y 18.1269 kJ/mol para β-caroteno y el α-caroteno respectivamente en atmósfera modificada y 13.82 y 14.25 kJ/mol para β-caroteno y el α-caroteno respectivamente al aire; Koca et al. (2007) en zanahorias deshidratadas y blanqueadas durante el almacenamiento a 27, 37, 47 y 57°C, con E_a de 15.8 y 9.3 kJ/mol respectivamente para β-caroteno; y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020) en jugo de tomate de árbol tratado térmicamente a 70, 80 y 90 °C, informaron valores de E_a de 59,50, 69,75, 18,23, 43,66 y 18,84 kJ/mol para β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno respectivamente. Sin embargo, algunos autores han mostrado valores de E_a mayores como: Dhuique-Mayer et al. (2007) en jugo de cítricos tratado térmicamente a 75 y 100°C con valores de E_a de 110 y 156 kJ/mol para β-caroteno y β-criptoxantina respectivamente; y Fratianni et al. (2017) en albaricoque sometido a tratamiento térmico por convección a 5, 60 y 70°C, con valores de E_a de 120,60 kJ/mol para de β-criptoxantina; entre otros.

Figura 8-12: Arrhenius para la degradación térmica de carotenoides β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno en torta (a), galleta (b) y pan (c), durante el horneado

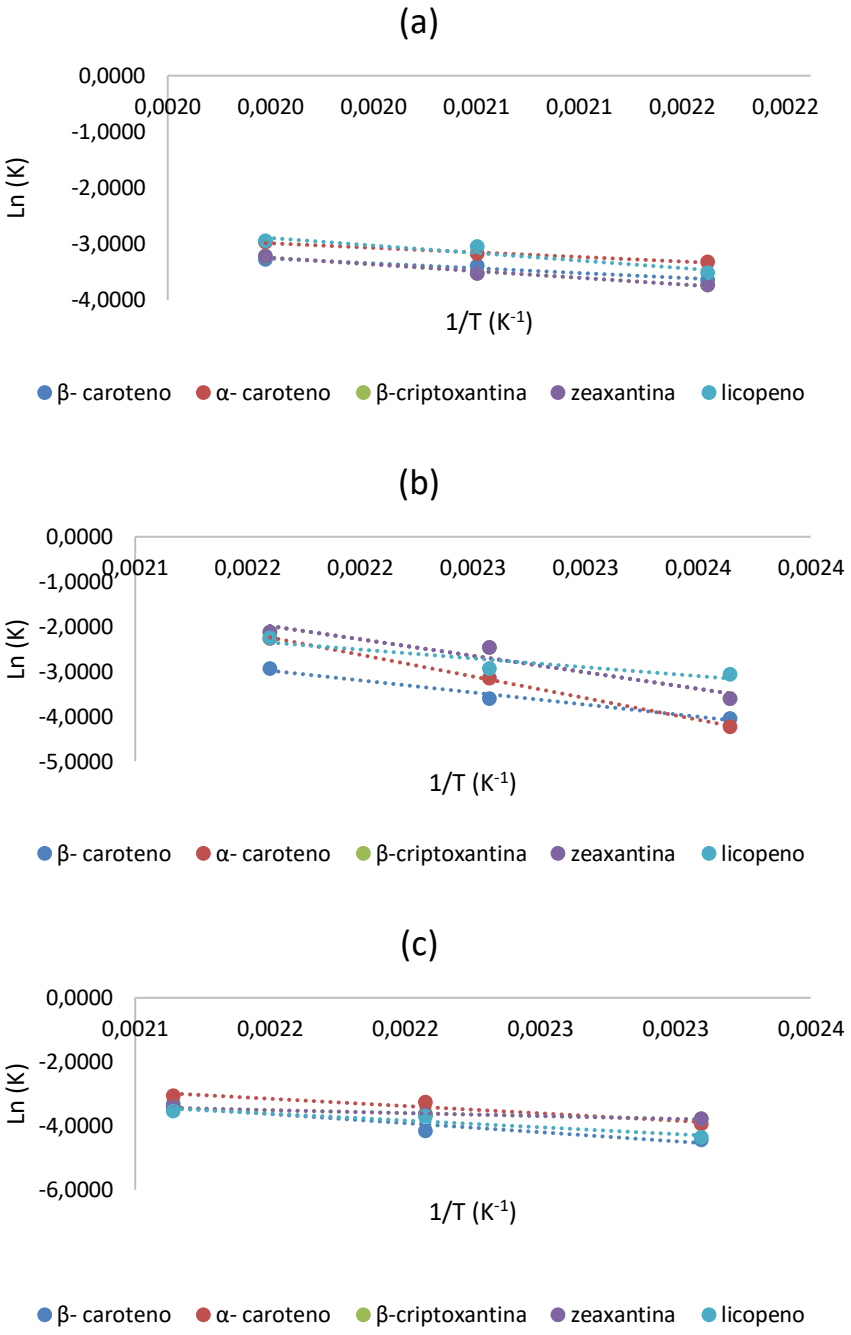


Tabla 8-12: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en torta entre 190 y 230 °C

Compuesto	T (°C)	E_a (kJ mol^{-1})	R^2	ΔH (kJ mol)	ΔG (kJ mol^{-1})	ΔS (J mol^{-1} k)
β- Caroteno	190	17,92	0,97	14,07	129,11	-248,47
	210			13,90	133,85	-248,34
	230			13,74	139,07	-249,17
α- Caroteno	190	16,88	0,99	13,03	127,87	-248,03
	210			12,87	132,97	-248,65
	230			12,70	137,80	-248,72
β-Criptoxantina	190	24,76	0,98	20,91	129,44	-234,41
	210			20,74	134,40	-235,32
	230			20,58	138,82	-235,08
Zeaxantina	190	24,76	0,98	20,91	129,44	-234,41
	210			20,74	134,40	-235,32
	230			20,58	138,82	-235,08
Licopeno	190	27,87	0,90	24,02	128,62	-225,92
	210			23,85	132,47	-224,89
	230			23,69	137,69	-226,65

Tabla 8-13: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en galleta entre 150 y 190 °C

Compuesto	T (°C)	E_a (kJ mol^{-1})	R^2	ΔH (kJ mol)	ΔG (kJ mol^{-1})	ΔS (J mol^{-1} k)
β- Caroteno	150	44,89	0,98	41,38	119,03	-183,58
	170			41,21	123,24	-185,16
	190			41,04	126,37	-184,29
α- Caroteno	150	80,20	0,99	76,68	119,70	-101,70
	170			76,52	121,55	-101,65
	190			76,35	123,79	-102,46
β-Criptoxantina	150	61,14	0,93	57,63	117,51	-141,56
	170			57,46	119,04	-139,01
	190			57,29	123,23	-142,41
Zeaxantina	150	61,14	0,93	57,63	117,51	-141,56
	170			57,46	119,04	-139,01
	190			57,29	123,23	-142,41
Licopeno	150	32,70	0,84	29,18	115,60	-204,30

	170			29,01	120,78	-207,14
	190			28,85	123,75	-204,98

Tabla 8-14: Parámetros termodinámicos obtenidos para la degradación de los carotenoides en pan entre 160 y 200 °C

Compuesto	T (°C)	E_a (kJ mol^{-1})	R^2	ΔH (kJ mol)	ΔG (kJ mol^{-1})	ΔS (J mol^{-1} k)
β- Caroteno	160	47,22	0,91	43,62	123,38	-184,21
	180			43,45	128,21	-187,11
	200			43,29	130,73	-184,87
α- Caroteno	160	37,86	0,92	34,26	121,63	-201,77
	180			34,10	124,82	-200,26
	200			33,93	129,74	-202,56
β-Criptoxantina	160	15,13	0,99	11,53	121,04	-252,92
	180			11,36	126,24	-253,59
	200			11,19	131,17	-253,64
Zeaxantina	160	15,13	0,99	11,53	121,04	-252,92
	180			11,36	126,24	-253,59
	200			11,19	131,17	-253,64
Licopeno	160	35,40	0,91	31,80	123,14	-210,94
	180			31,64	126,50	-209,41
	200			31,47	131,62	-211,73

ΔH representa la energía mínima requerida para que el reactante haga que se produzca la reacción y está relacionada con la fuerza de los enlaces químicos que se rompen y se producen durante la reacción (Martynenko & Chen, 2016). La reducción de ΔH con el aumento de la temperatura muestra que el límite máximo de energía para destruir los enlaces es más bajo a temperaturas más altas (Martynenko & Chen, 2016; Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019). En este estudio los valores de la ΔH de la degradación de los carotenoides en cada producto horneado aparecieron en el mismo orden que la energía de activación como lo detallado previamente por Xiao et al. (2018), los valores de la ΔH para cada carotenoide de estudio fueron similar a diferentes temperaturas de horneado en cada producto de panificación, este comportamiento concuerda con lo

reportado previamente por Martynenko & Chen, (2016); Mitra et al. (2017). El valor de ΔH para la degradación de β- caroteno fue mayor en pan con un rango de 43,29 a 43,62 kJ/mol, de α- caroteno fue mayor en galleta con un rango de 76,35 a 76,68 kJ/mol, de β-criptoxantina y zeaxantina fue mayor en galleta con un rango de 57,29 a 57,63 kJ/mol y licopeno fue mayor en pan con un rango de 31,47 a 31,80 kJ/mol. El valor positivo de ΔH indicó que la relación de degradación de carotenoides en los productos horneados es una reacción endotérmica y confirma los resultados anteriores del aumento de la tasa de degradación con la temperatura (Martynenko & Chen, 2016). Los valores de ΔH de los carotenoides fueron similares a Aparicio-Ruiz, Mínguez-Mosquera, & Gandul-Rojas, (2011) con valores de ΔH para β-caroteno 12,92-13,83 kJ/mol y β-criptoxantina 12,42-14,58 kJ/mol, en una temperatura de trabajo de 60 a 120 °C; y Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020) para β- caroteno 56,78 a 56, 95 kJ /mol, α- caroteno 67,03 a 67,20 kJ/mol, β-criptoxantina 15,51 a 15,67 kJ/mol, zeaxantina 40,94 a 41,10 kJ/mol y licopeno 16,12 a 16,28 kJ/mol en una temperatura de trabajo de 70 a 90 °C.

La energía libre de Gibbs (ΔG) se define como la diferencia entre las energías de los reactivos y el estado activado (Mercali et al. 2013), este parámetro es una medida que indica la espontaneidad del proceso. En este estudio, para los tres productos de panificacion obtuvieron valores positivos de ΔG, estos resultados indicaron que la degradación térmica de los carotenoides es una reaccion no espontanea (Aparicio-Ruiz et al. 2011; Martynenko & Chen, 2016), los valores cercanos de ΔG en el rango de temperatura de horneado evaluado en torta, galleta y pan, indica que la temperatura de horneado afecta de forma similar la tasa de degradacion de los carotenoides en todos los productos (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019). Los valores de ΔS fueron negativos en todos los carotenoides estudiados en torta, galleta y pan. Los valores negativos de ΔS indican que el estado de transición tiene menos libertad estructural que los reactivos, mientras que los valores positivos o mayores indican que se requiere más energía para formar el complejo activado (Martynenko & Chen, 2016). Estos resultados obtenidos de ΔG y ΔS presentan un patrón similar a los indicados por Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, (2020) en jugo de tomate de árbol tratado térmicamente a 70 y 90°C y Aparicio-Ruiz et al. (2011) en aceite de oliva tratado térmicamente a 60 a 120 °C, los carotenoides con los valores negativos más altos fueron β-caroteno y α-caroteno en torta, licopeno y β-caroteno en galleta, β-criptoxantina y zeaxantina en pan. Esto confirma la secuencia del grado de termoresitencia en los productos horneados: α-caroteno> β-caroteno> β-criptoxantina y

zeaxantina>licopeno en torta; licopeno > β-caroteno > β-criptoxantina y zeaxantina > α-caroteno en galleta; y β-criptoxantina y zeaxantina> licopeno> α-caroteno> β-caroteno en pan.

En el presente estudio, el modelo cinético utilizado es termodinámicamente posible y permite predecir los cambios de los carotenoides durante las diferentes temperaturas de horneado. Debido a lo anterior, estos resultados podrían ser utilizados para la optimización del tratamiento térmico de los productos horneados con el fin de obtener productos con la mayor concentración de carotenoides posibles. Los resultados cinéticos y termodinámicos de este trabajo muestran que, en las diferentes matrices de estudio, los carotenoides más estables son: α-caroteno y β-caroteno en torta; licopeno y β-caroteno en galleta; y β-criptoxantina y zeaxantina en pan. Estos resultados podrían deberse a las diferencias en la formulación y amasado de las matrices estudiadas, rangos de temperaturas de horneado estudiados, composición, configuración geométrica de cada carotenoide, y la presencia de diferentes sustratos como las vitaminas C y E que se pueden encontrar en diferentes concentraciones en las matrices de alimentos (Aparicio-Ruiz et al. 2011; Fratianni et al. 2017; Mba, Dumont, & Ngadi, 2017; Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019)

Factores como la temperatura son los responsables de la degradación de carotenoides debido a las reacciones de oxidación e isomerización como se expone en la sección 5.2., se estableció que el efecto de la intensidad de la temperatura de horneado puede generar reacciones químicas que forman estructuras *cis*-carotenoides, epoxicarotenoides, apocarotenoides y escisión directa de la cadena de polieno y en apocarotenales e hidroxilación, dando como resultado compuestos más volátiles de bajo peso molecular como β-ionona, 2-hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexanona, 2,6,6-trimetilciclohexanona, 2-hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexano-1-carboxaldehido, entre otros (Ordóñez-Santos & Martínez-Girón, 2019; Rodriguez-Amaya, 2015, 2016, 2019)

9. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo se determina que la piel de mandarina deshidratada es una importante fuente de carotenoides que tiene un potencial agroindustrial como colorante natural en productos de panificación. Los carotenoides de mayor concentración en la piel de mandarina fueron β- Criptoxantina y zeaxantina con valores de 119,06 ± 0,11 y 118,10±0,11 µg/g de muestra seca respectivamente.

El Diseño Central Compuesto y la metodología de superficie de respuesta (RSM) permitieron optimizar los parámetros de extracción en el proceso asistido con ultrasonido de los carotenoides totales presente en la harina de mandarina deshidratada, indicando que una temperatura de 60°C, un tiempo 43min y una relación sólido-líquido 0,0016g/4ml, se obtiene la máxima concentración de 129,30±2,56mg/100g de muestra seca. La extracción asistida por ultrasonido de los carotenoides totales en la harina de epicarpio de mandarina deshidratada demostró ser más eficiente frente al método convencional debido a la interrupción de las paredes celulares del material vegetal producida por los efectos mecánicos de la cavitación acústica, registrando un tiempo de 43 minutos y 21,70% más en rendimiento de extracción.

En este estudio se pudo describir un modelo termodinámico que permite predecir los cambios de los carotenoides durante las temperaturas de horneado. La cinética de degradación térmica siguió una reacción de primer orden con un coeficiente de correlación de $R^2 > 0.80$ en todos los productos de panificación evaluados. La energía de activación (E_a) en todos los casos presentó un coeficiente de correlación de R^2 en un rango de 0,84 y 0,99. Los resultados cinéticos y termodinámicos de este trabajo muestran que los carotenoides más estables son α-caroteno y β-caroteno en torta, licopeno y β-caroteno en

galleta y β-criptoxantina y zeaxantina en pan. Los parámetros ΔH, ΔG, ΔS demostraron que la relación de degradación de carotenoides sigue una reacción endotérmica, no espontánea y tiene menos libertad estructural que los reactivos. Estos resultados son importantes para el diseño y optimización de tratamientos térmicos de productos horneados con el fin de preservar una mayor calidad nutricional.

10. BIBLIOGRAFÍA

Aadil, R. M., Zeng, X. A., Sun, D. W., Wang, M. S., Liu, Z. W., & Zhang, Z. H. (2015). Combined effects of sonication and pulsed electric field on selected quality parameters of grapefruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, *42*, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.025

Agócs, A., Nagy, V., Szabó, Z., Márk, L., Ohmacht, R., & Deli, J. (2007). Comparative study on the carotenoid composition of the peel and the pulp of different citrus species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *8*, 390–394. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.012

Aguilera Gutierrez, Y. (2009). *HARINAS DE LEGUMINOSAS DESHIDRATADAS: Caracterización Nutricional y Valoración de sus Propiedades Tecno-Funcionales*. Universidad Autónoma de Madrid. Retrieved from http://161.111.70.163/bitstream/10261/101592/1/Harinas de leguminosas deshidratadas.pdf

Albors, A., Raigon, M. D., García-Martinez, M. D., & Martín-Esparza, M. E. (2016). Assessment of techno-functional and sensory attributes of tiger nut fresh egg tagliatelle. *LWT - Food Science and Technology*, *74*, 183–190. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.047

Ali, H. S., Mansour, A. F., Kamil, M. M., & Hussein, A. M. S. (2018). Formulation of nutraceutical biscuits based on dried spent coffee grounds. *International Journal of Pharmacology*, *14(4)*, 584–594. https://doi.org/10.3923/ijp.2018.584.594

Alzate T, L. M., González, D., Hincapié, S., Cardona S, B. L., Londoño-Londoño, J., & Jiménez-Cartagena, C. (2017). The profile of bioactive substances in ten vegetable and fruit by-products from a food supply chain in Colombia. *Sustainable Production and Consumption*, *9*, 37–43. https://doi.org/10.1016/j.spc.2016.07.005

Anyasi, T. A., Jideani, A. I. O., & McHau, G. R. A. (2015). Effect of organic acid pretreatment on some physical, functional and antioxidant properties of flour obtained from three unripe banana cultivars. *Food Chemistry*, *172*, 515–522. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.120

AOAC. (2000). *Official Methods Of Analysis of A.O.A.C International, Agricultural Chemicals, contaminants, drugs,* (17th Edn). Maryland, EE.UU.

AOC International. (1999). Official Methods of Analysis method 936. Gaithersburg.

Aprodu, I., & Banu, I. (2015). Influence of dietary fiber, water, and glucose oxidase on rheological and baking properties of maize based gluten-free bread. *Food Science and Biotechnology*, *24*(4), 1301–1307. https://doi.org/10.1007/s10068-015-0167-z

Aruldass, C. A., Dufossé, L., & Ahmad, W. A. (2018). Current perspective of yellowish-orange pigments from microorganisms- a review. *Journal of Cleaner Production*, *180*, 168–182. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.093

Badjona, A., Adubofuor, J., Amoah, I., & Diako, C. (2019). Valorisation of carrot and pineapple pomaces for rock buns development. *Scientific African*, e00160. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00160

Baraheng, S., & Karrila, T. (2019). Chemical and functional properties of durian (Durio zibethinus Murr.) seed flour and starch. *Food Bioscience*, *30*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100412

Bawa, A. S., Saxena, D. C., Saini, C., Singh, G. D., Riar, C. S., & Sogi, D. S. (2011). Indian water chestnut flour- method optimization for preparation, its physicochemical, morphological, pasting properties and its potential in cookies preparation. *LWT - Food Science and Technology*, *44*, 665–672. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.015

Benmeziane, A., Boulekbache-Makhlouf, L., Mapelli-Brahm, P., Khaled Khodja, N., Remini, H., Madani, K., & Meléndez-Martínez, A. J. (2018). Extraction of carotenoids from cantaloupe waste and determination of its mineral composition. *Food Research International*, *111*, 391–398. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.044

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008, September 15). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019

Canacuan, h. G. C., Murillo, B. L. V., & Santos, L. E. O. (2016). Effects of heat treatment on the concentration of vitamin C and surface color in three tropicale fruits. *Revista Lasallista de Investigacion*, *13(1)*, 85–93.

Cappa, C., Lucisano, M., & Mariotti, M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate Polymers*, *98*(2), 1657–1666. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.007

Casarotti, S. N., Borgonovi, T. F., Batista, C. L. F. M., & Penna, A. L. B. (2018). Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. *LWT*, *98*, 69–76. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010

Chapman, S. (2011). Guidelines on approaches to the replacement of Tartrazine, Allura Red, Ponceau 4R, Quinoline Yellow, Sunset Yellow and Carmoisine in food and beverages. *Food Standards Agency*, 1–38.

Chen, H., Rubenthaler, G. L., Leung, H. K., & Baranowski, J. D. (1988). Chemical, Physical, and Baking Properties of Apple Fiber Compared with Wheat and Oat Bran'. *Cereal Chemistry*, *65(3)*, 244–247. Retrieved from https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1988/documents/65_244.pdf

Cilla, A., Bosch, L., Barberá, R., & Alegría, A. (2018). Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds – A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, *68*, 3–15. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.009

Colle, I. J. P., Lemmens, L., Knockaert, G., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2016). Carotene Degradation and Isomerization during Thermal Processing: A Review on the Kinetic Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(11), 1844–1855. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.790779

Conesa, A., Manera, F. C., Brotons, J. M., Fernandez-Zapata, J. C., Simón, I., Simón-Grao, S., … García-Sanchez, F. (2019). Changes in the content of chlorophylls and carotenoids in the rind of Fino 49 lemons during maturation and their relationship with parameters from the CIELAB color space. *Scientia Horticulturae*, *243*, 252–260. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.030

Da Silva, L. M. R., De Figueiredo, E. A. T., Ricardo, N. M. P. S., Vieira, I. G. P., De Figueiredo, R. W., Brasil, I. M., & Gomes, C. L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, *143*, 398–404. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001

DANE. (2019). Importaciones de Materias tintóreas, curtientes y colorantes. Retrieved October 8, 2019, from https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/comercio-internacional/importaciones

De Andrade, F. I., Florindo Guedes, M. I., Pinto Vieira, Í. G., Pereira Mendes, F. N., Salmito Rodrigues, P. A., Costa Maia, C. S., … De Matos Ribeiro, L. (2014). Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC. *Food Chemistry*, *157*, 193–198. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.100

De Moraes Barros, H. R., De Castro Ferreira, T. A. P., & Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, *134(4)*, 1892–1898. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090

Dejaegher, B., & Vander Heyden, Y. (2011, September 10). Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.04.023

Delgado-Nieblas, C. I., Zazueta-Morales, J. J., Ahumada-Aguilar, J. A., Aguilar-Palazuelos, E., Carrillo-López, A., Jacobo-Valenzuela, N., & Telis-Romero, J. (2017). Optimization of an Air-Drying Process to Obtain a Dehydrated Naranjita (Citrus Mitis B.) Pomace Product With High Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity. *Food Process Engineering*, *40(1)*, 12338.

Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., & Amiot, M. J. (2007a). Thermal degradation of antioxidant micronutrients in Citrus juice: Kinetics and newly formed compounds. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 55, pp. 4209–4216). https://doi.org/10.1021/jf0700529

Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., & Amiot, M. J. (2007b). Thermal degradation of antioxidant micronutrients in Citrus juice: Kinetics and newly formed compounds. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 55, pp. 4209–4216). https://doi.org/10.1021/jf0700529

Edun, A. A., Olatunde, G. O., Shittu, T. A., & Adeogun, A. I. (2019). Flour, dough and bread properties of wheat flour substituted with orange-fleshed sweetpotato flour. *Journal of Culinary Science and Technology*, *17*(3), 268–289. https://doi.org/10.1080/15428052.2018.1436109

FAO/OMS. (2014). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura/ Organización Mundial de la Salud*. Retrieved from http://www.fao.org

Farid, C., Zill-e-Huma, & Muhammed, K. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, *18*, 813–835.

Ferreira, S. L. C., Bruns, R. E., da Silva, E. G. P., dos Santos, W. N. L., Quintella, C. M., David, J. M., … Neto, B. B. (2007, July 27). Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Journal of Chromatography A*. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.051

Ferreira, S. L. C., Lemos, V. A., de Carvalho, V. S., da Silva, E. G. P., Queiroz, A. F. S., Felix, C. S. A., … Oliveira, R. V. (2018, July 1). Multivariate optimization techniques in analytical chemistry - an overview. *Microchemical Journal*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.002

Fontana, A. . (2007). *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications. Appendix D: Minimum Water Activity Limits for Growth of Microorganisms*. (T. P. BarbosaCánovas, G.V.; Fontana Jr., A.J.; Schmidt, S.J.; Labuza, Ed.). https://doi.org/10.1002/9780470376454.app4

Food Desing Product. (2015). The Natural Color Palette. Retrieved from http://www.foodproductdesign.com/digital-issues/2015/05/natural-colors.aspx.

Fratianni, A., Niroa, S., Messia, M. ., Cinquanta, L., Panfili, G., Albanese, D., & Di Matteo, M. (2017). Kinetics of carotenoids degradation and furosine formation in dried apricots (Prunus armeniaca L.). *Food Research International*, *99(2)*, 862–867. Retrieved from https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unal.edu.co/science/article/pii/S0963996916306032?via%3Dihub

Garcia-Valle, D. E., Bello-Perez, L. A., Flores-Silva, P. C., Agama-Acevedo, E., & Tovar, J. (2019). Extruded unripe plantain flour as an indigestible carbohydrate-rich ingredient. *Frontiers in Nutrition*, *6*. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00002

Giménez, P. J., Fernández-López, J. A., Angosto, J. M., & Obón, J. M. (2015). Comparative Thermal Degradation Patterns of Natural Yellow Colorants Used in Foods. *Plant Foods for Human Nutrition*, *70*(4), 380–387. https://doi.org/10.1007/s11130-015-0499-0

Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 821–830. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.07.022

Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 821–830.

Gündołdu, T. K., Deniz, Ţem, Çalişkan, G., Şahin, E. S., & Azbar, N. (2016, March 3). Experimental design methods for bioengineering applications. *Critical Reviews in Biotechnology*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.3109/07388551.2014.973014

Hayward, S., Cilliers, T., & Swart, P. (2017). Lipoxygenases: From Isolation to Application. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*, 199–211. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12239

Ho, L. H., & Abdul, Latif, N. W. B. (2016). Nutritional composition, physical properties, and sensory evaluation of cookies prepared from wheat flour and pitaya (Hylocereus undatus) peel flour blends. *Cogent Food & Agriculture*, *2*, 1136–1369.

Ibáñez, F., Torres, P., & Irigoyen, A. (2003). *Aditivos Alimentarios*. Retrieved from http://muybio.com/wp-content/uploads/2012/10/aditivos-alimentarios.pdf

ICONTEC. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. NTC 4592. (1999). Determinación del pH, 4.

Infante, R. A., Natal, D. I. G., Moreira, M. E. de C., Bastiani, M. I. D., Chagas, C. G. O., Nutti, M. R., … Martino, H. S. D. (2017). Enriched sorghum cookies with biofortified sweet potato carotenoids have good acceptance and high iron bioavailability. *Journal of Functional Foods*, *38*, 89–99. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.044

Jiang, H.-L., Yang, J.-L., & Shi, Y.-P. (2017). Optimization of ultrasonic cell grinder extraction of anthocyanins from blueberry using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 325–331.

Julianti, E., Rusmarilin, H., Ridwansyah, & Yusraini, E. (2017). Functional and rheological properties of composite flour from sweet potato, maize, soybean and xanthan gum. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *16*(2), 171–177. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.05.005

Kentish, S. E. (2017). Engineering Principles of Ultrasound Technology. In *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation* (pp. 1–13). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00001-4

Koca, N., Hande Selen Burdurlu, & Feryal, K. (2007). Kinetics of colour changes in dehydrated carrots. *Journal of Food Engineering*, *78 (2)*, 449–455. Retrieved from https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unal.edu.co/science/article/pii/S0260877405007053?via%3Dihub

Kumar, P. S., Saravanan, A., Sheeba, N., & Uma, S. (2019). Structural, functional

characterization and physicochemical properties of green banana flour from dessert and plantain bananas (Musa spp.). *LWT*, *116*, 108524. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108524

Lara, E., Cortés, P., Briones, V., & Perez, M. (2011). Structural and physical modifications of corn biscuits during baking process. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(3), 622–630. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.007

Li, W., Liu, C., He, M., Li, J., Cai, Y., Ma, Y., & Xu, J. (2017). Largely different contents of terpenoids in beef red-flesh tangerine and its wild type. *BMC Plant Biology*, *17*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/s12870-017-0988-4

Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., Tomao, V., Cravotto, G., & Chemat, F. (2013). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*, 12–18. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.005

Martínez-Girón, J., Figueroa-Molano, A. M., & Ordóñez-Santos, L. E. (2017). Effect of the addition of peach palm (Bactris gasipaes) peel flour on the color and sensory properties of cakes. *Revista de Ciências Agrárias*, *37(3)*, 418–424. https://doi.org/10.19084/rca16008

Martínez-Girón, J., Rodríguez-Rodríguez, X., Pinzón-Zárate, L. X., & Ordóñez-Santos, L. . (2017). Caracterización fisicoquímica de harina de residuos del fruto de chontaduro (Bactris gasipaes Kunth, Arecaceae) obtenida por secado convectivo. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, *18*, 599–613. https://doi.org/https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:747

Martins, P. L. G., & de Rosso, V. V. (2016). Thermal and light stabilities and antioxidant activity of carotenoids from tomatoes extracted using an ultrasound-assisted completely solvent-free method. *Food Research International*, *82*, 156–164. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.015

Martynenko, A., & Chen, Y. (2016). Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *Journal of Food Engineering*, *171*, 44–51.

https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.10.008

Mathew, B. B., Shajie, D., Wadhwa, N., Krishna Murthy, N. B., Krishna Murthy, T. P., & Rashmi, M. (2013). Comparative antioxidant efficacy of Citrus limonum pulp and peel - An invitro study. *Drug Invention Today*, *5*, 296–301. https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.07.003

Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014). El Color en los Alimentos un Criterio de Calidad Medible. *Agro Sur*, *42*(2), 57–66. https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n2-07

Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)*, *54(2)*, ISSN 0004-0622. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011

Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *57(2)*, 109–117.

Mercali, G. D., Jaeschke, D. P., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2013). Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. *Food Chemistry*, *136*(2), 853–857. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.024

Moise, A. R., Al-Babili, S., & Wurtzel, E. T. (2014, January 8). Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis. *Chemical Reviews*. https://doi.org/10.1021/cr400106y

Mosquera, M. I. M., & Hornero, A. P. G. Y. D. (2005). Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantes” naturales. *Agro CSIC*, 3–7.

Murador, D. C., Braga, A. R. C., Martins, P. L. G., Mercadante, A. Z., & de Rosso, V. V. (2019). Ionic liquid associated with ultrasonic-assisted extraction: A new approach to obtain carotenoids from orange peel. *Food Research International*, *126*, 108653. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108653

Mustapa, A. N., Manan, Z. A., Mohd Azizi, C. Y., Setianto, W. B., & Mohd Omar, A. K. (2011). Extraction of β-carotenes from palm oil mesocarp using sub-critical R134a.

Food Chemistry, *125*, 262–267. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.042

Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & Garcia, C. (2010). Extracción Y Caracterización Del Aceite Esencial De Manadarina Obtenido De Residuos Agroindustriales. *Dyna*, *162*(0012-7353), 85–92.

Neto, B. B., Scarminio, I. S., & Bruns, R. E. (2005). Chapter 6 Exploring the response surface. *Data Handling in Science and Technology*. https://doi.org/10.1016/S0922-3487(05)25006-2

Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57(15)*, 3243–3259. https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498

Oplatowska-Stachowiak, M., & Elliott, C. T. (2017). Food colors: Existing and emerging food safety concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*, 524–548. https://doi.org/10.1080/10408398.2014.889652

Ordóñez-Santos, L. E., & Martínez-Girón, J. (2020). Thermal degradation kinetics of carotenoids, vitamin C and provitamin A in tree tomato juice. *International Journal of Food Science and Technology*, *55(1)*, 201–210. https://doi.org/10.1111/ijfs.14263

Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*, *233*, 93–100. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.114

Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Figueroa-Molano, A. M. (2016). .Effect of the addition of peach palm (Bactris gasipaes) peel flour on the color and sensory properties of wheat bread. *Revista de Ciências Agrárias*, *39(3)*, 456–462. https://doi.org/dx.doi.org/10.19084/RCA16008

Ordoñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Ximena Rodríguez-Rodríguez, D. (2019). Extraction of total carotenoids from peach palm fruit (Bactris gasipaes) peel by means of ultrasound application and vegetable oil •. *Revista DYNA*, *86*, 91–96. https://doi.org/10.15446/dyna.v85n207.74840

Ordóñez-Santos, L. E., Pinzón-Zarate, L. X., & González-Salcedo, L. O. (2015). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (Bactris gasipaes) by-products with sunflower oil using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *233*, 96–100. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.010

Ordoñez S., L. E., Osorio Mora, O., & Pinchao P., Y. A. (2019). Evaluation of the effect of different factors on the ultrasound assisted extraction of phenolic compounds of the pea pod. *DYNA*, *86*(210), 211–215. https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.72880

Pacheco, M. T., Moreno, F. J., & Villamiel, M. (2019). Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. *The Science of Food and Agriculture*, *99(2)*, 868–876.

Pathak, D., Majumdar, J., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2016). Characterization of physicochemical properties in whole wheat bread after incorporation of ripe mango peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *10*, 554–561. https://doi.org/10.1007/s11694-016-9335-y

Peleg, M. (2019, March 15). Modeling Degradation Kinetics in Dry Foods Storage under Varying Temperature and Moisture Content—Theoretical Evaluation. *Food Engineering Reviews*. Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/s12393-018-9185-y

Peñaranda Gonzalez, L. V., Montenegro Gómez, S. P., & Giraldo Abad, P. A. (2017). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia Exploitation of agroindustrial waste in Colombia Exploração de resíduos agroindustriais na Colômbia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *8*, 141–150.

Pinzón-Zárate, L. X., Hleap-Zapata, J. I., & Ordóñez-Santos, L. E. (2015). Análisis de los parámetros de color en salchichas frankfurt adicionadas con extracto oleoso de residuos de chontaduro (Bactris Gasipaes). *Informacion Tecnologica*, *26*(5), 45–54. https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500007

Porto Dalla Costa, A., Cruz Silveira Thys, R., De Oliveira Rios, A., & Hickmann Flôres, S. (2016). Carrot Flour from Minimally Processed Residue as Substitute of β-Carotene Commercial in Dry Pasta Prepared with Common Wheat (Triticum aestivum). *Journal*

of Food Quality, *39*, 590–598. https://doi.org/10.1111/jfq.12253

Potosí-Calvache, D. C., Vanegas-Mahecha, P., & Martínez-Correa, H. A. (2017). Secado convectivo de zapallo (Cucúrbita moschata): Influencia de la temperatura y velocidad de aire sobre la difusividad efectiva de humedad, contenido de carotenoides y fenoles totales. *DYNA (Colombia)*, *84*(202), 112–119. https://doi.org/10.15446/dyna.v84n202.63904

Potosi, D. ., Navegas, M. ., & Martínez, C., H. A. (2017). Convective drying of squash (cucurbita moschata) influence of temperature anda ir velocity on efetivei misturem diffusivity, carotenoid content and total phenols. *Dyna*, *84*, 112–119.

Purlis, E. (2010, August). Browning development in bakery products - A review. *Journal of Food Engineering*. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.008

Purlis, E., & Salvadori, V. O. (2009). Modelling the browning of bread during baking. *Food Research International*, *42*(7), 865–870. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.007

Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, F. J., Cravotto, G., Binello, A., … Shpigelman, A. (2017). Innovative "green" and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citruswastes - A review. *Molecules*, *22*, 680. https://doi.org/10.3390/molecules22050680

Rahman, N. F. A., Shamsudin, R., Ismail, A., Shah, N. N. A. K., & Varith, J. (2018). Effects of drying methods on total phenolic contents and antioxidant capacity of the pomelo (Citrus grandis (L.) Osbeck) peels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *50*, 217–225. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.01.009

Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, *44*, 2088–2099. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.056

Rastogi, N. K. (2011). Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(8), 705–722. https://doi.org/10.1080/10408391003770583

Robertson, J. A., Francois D de Monredon, Patrick Dysseler, Fabienne Guillon, Renato Amado, & Jean-Francois Thibault. (2000). Hydration Properties of Dietary Fibre and Resistant Starch: a European Collaborative Study. *WT - Food Science and Technology*, *33(2)*, 72–79. https://doi.org/ttps://doi.org/10.1006/fstl.1999.0595

Rodriguez-Amaya, D. B. (2015). Carotenes and xanthophylls as antioxidants. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (pp. 17–50). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00002-6

Rodriguez-Amaya, D. B. (2016, February 1). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004

Rodriguez-Amaya, D. B. (2019). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, *124*, 200–205. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.028

Rojas, J. E., Hernández, S., Gráfico, D., Beltrán, E. C., Ximena, M., Baquero, M., & Leydi, C. (2017). *Sabores y Fragancias, Colorantes y Pigmentos*. Bogota. Retrieved from https://www.cvn.com.co/wp-content/uploads/2018/08/2-sabores-y-fragancias-colorantes-pigmentos-1.pdf

Roselló-Soto, E., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Orlien, V., Trujillo, F. J., Mawson, R., … Barba, F. J. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science and Technology*, *42*, 134–149. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.01.002

Ruiz-Armenta, X. A., Zazueta-Morales, J. de J., Aguilar-Palazuelos, E., Delgado-Nieblas, C. I., López-Diaz, A., Camacho-Hernández, I. L., … Martínez-Bustos, F. (2017). Effect of extrusion on the carotenoid content, physical and sensory properties of snacks added with bagasse of naranjita fruit: optimization process. *CyTA - Journal of Food*, *16*, 172–180. https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1368717

Sabanis, D., Lebesi, D., & Tzia, C. (2009). Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(8), 1380–1389. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.010

Saini, R. K., & Keum, Y.-S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, *240*, 90–103. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099

Sánchez Juan, R. (2013). La Química del Color en los Alimentos. *Revista QuímicaViva*, *3*, https://www.redalyc.org/pdf/863/86329278005.pdf.

Satari, B., & Karimi, K. (2018). Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. *Resources, Conservation and Recycling*, *129*, 153–167. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.032

Schweiggert, R. M. (2018). Perspective on the Ongoing Replacement of Artificial and Animal-Based Dyes with Alternative Natural Pigments in Foods and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*, 3074−3081. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05930

Shahram, H., & Dinani, S. T. (2019). Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction of β-carotene from orange processing waste. *Journal of Food Process Engineering*, *4*. https://doi.org/10.1111/jfpe.13042

Shakeri, A., Soheili, V., Karimi, M., Hosseininia, S. A., & Fazly Bazzaz, B. S. (2018). Biological activities of three natural plant pigments and their health benefits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*, 356–361. https://doi.org/10.1007/s11694-017-9647-6

Sharif, K. M., Rahman, M. M., Azmir, J., Mohamed, A., Jahurul, M. H. A., Sahena, F., & Zaidul, I. S. M. (2014). Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. *Journal of Food Engineering*. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.003

Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., & Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmently friendly approaches. *Nutrition*, *34*, 29–46. https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.09.006

Sharmila, G., Muthukumaran, C., Suriya, E., Muppidathi Keerthana, R., Kamatchi, M., Kumar, N. M., … Jeyanthi, J. (2019). Ultrasound aided extraction of yellow pigment from Tecoma castanifolia floral petals: Optimization by response surface method and evaluation of the antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, *130*, 467–477.

https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.008

Shen, Y., Zhang, X., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2014). Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food Chemistry*, *157*, 553–558. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.039

Silva, Y. P. ., Ferreira, T. A. P. ., Celli, G. ., & Marianne S. (2018). Optimization of Lycopene Extraction from Tomato Processing Waste Using an Eco-Friendly Ethyl Lactate–Ethyl Acetate Solvent: A Green Valorization Approach. *Waste and Biomass Valorization*, 1–11. https://doi.org/https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1007/s12649-018-0317-7

Soltani Firouz, M., Farahmandi, A., & Hosseinpour, S. (2019, October 1). Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*. Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.014

Song, J., Yang, Q., Huang, W., Xiao, Y., Li, D., & Liu, C. (2018a). Optimization of trans lutein from pumpkin (Cucurbita moschata) peel by ultrasound-assisted extraction. *Food and Bioproducts Processing*. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.10.008

Song, J., Yang, Q., Huang, W., Xiao, Y., Li, D., & Liu, C. (2018b). Optimization of trans lutein from pumpkin (Cucurbita moschata) peel by ultrasound-assisted extraction. *Food and Bioproducts Processing*, *107*, 104–112. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.10.008

Stachová, I., Lhotská, I., Solich, P., & Šatínský, D. (2016). Determination of green, blue and yellow artificial food colorants and their abuse in herb-coloured green Easter beers on tap. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *33*, 1139–1146. https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1200198

Stuetz, W., Prapamontol, T., Hongsibsong, S., & Biesalski, H. K. (2010). Polymethoxylated flavones, flavanone glycosides, carotenoids, and antioxidants in different cultivation types of tangerines (citrus reticulata blanco cv. sainampueng) from Northern Thailand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(10), 6069–6074. https://doi.org/10.1021/jf904608h

Sui, X., Yap, P. Y., & Zhou, W. (2015). Anthocyanins During Baking: Their Degradation Kinetics and Impacts on Color and Antioxidant Capacity of Bread. *Food and Bioprocess Technology*, *8*(5), 983–994. https://doi.org/10.1007/s11947-014-1464-x

Sun, Y., Liu, D., Chen, J., Ye, X., & Yu, D. (2011). Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-trans-??-carotene from citrus peels. *Ultrasonics Sonochemistry*, *18*, 243–249. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.05.014

Tao, Y., & Sun, D. W. (2015). Enhancement of Food Processes by Ultrasound: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *55*(4), 570–594. https://doi.org/10.1080/10408398.2012.667849

Tekgül, Y., & Baysal, T. (2018). Comparative evaluation of quality properties and volatile profiles of lemon peels subjected to different drying techniques. *Journal of Food Process Engineering*, *41*, 1–9. https://doi.org/10.1111/jfpe.12902

Tiwari, B. K. (2015, September 1). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013

Tovar-Jiménez, X., Caro-Corrales, J., Gómez-Aldapa, C. A., Zazueta-Morales, J., Limón-Valenzuela, V., Castro-Rosas, J., … Aguilar-Palazuelos, E. (2015). Third generation snacks manufactured from orange by-products: physicochemical and nutritional characterization. *Journal of Food Science and Technology*, *52*, 6607–6614. https://doi.org/doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1007/s13197-015-1726-27/s13197-015-1726-2

Tsiaka, T., Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, V. J., Makris, C., Heropoulos, G. A., & Calokerinos, A. C. (2015). Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from Aristeus antennatus shrimp. *Analytica Chimica Acta*. https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.051

Ureta, M. M., Olivera, D. F., & Salvadori, V. O. (2014). Quality Attributes of Muffins: Effect of Baking Operative Conditions. *Food and Bioprocess Technology*, *7*(2), 463–470. https://doi.org/10.1007/s11947-012-1047-7

Ureta, M. M., Olivera, D. F., & Salvadori, V. O. (2016). Baking of Sponge Cake: Experimental Characterization and Mathematical Modelling. *Food and Bioprocess Technology*, *9*(4), 664–674. https://doi.org/10.1007/s11947-015-1660-3

Van Boekel, M. A. J. S. (2008). Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. *Compr. Rev. Food Sci*, 144–158.

Varela, J. C., Pereira, H., Vila, M., & León, R. (2015, September 17). Production of carotenoids by microalgae: Achievements and challenges. *Photosynthesis Research*. Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/s11120-015-0149-2

Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, *111*, 816–823. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054

Vieira da Silva Júnior, E., Lins de Melo, L., Batista de Medeiros, R. A., Pimenta Barros, Z. M., & Azoubel, P. M. (2018). Influence of ultrasound and vacuum assisted drying on papaya quality parameters. *LWT*, *97*, 317–322. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.017

Welti-Chanes, J., Morales-de la Peña, M., Jacobo-Velázquez, D. A., & Martín-Belloso, O. (2017). Opportunities and Challenges of Ultrasound for Food Processing: An Industry Point of View. In *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation* (pp. 457–497). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00019-1

Xiao, Y. dong, Huang, W. yang, Li, D. jing, Song, J. feng, Liu, C. quan, Wei, Q. yu, … Yang, Q. ming. (2018). Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light-induced model system. *Food Chemistry*, *239*, 360–368. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.107

Xu, Y., & Pan, S. (2013). Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (Citrus paradise Macf.). *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*, 1026–1032. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.006

Yan, F., Fan, K., He, J., & Gao, M. (2015). Ultrasonic-Assisted Solvent Extraction of

Carotenoids From Rapeseed Meal: Optimization Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Quality*, *38*, 377–386. https://doi.org/10.1111/jfq.12154

Yan, F., Shi, M., He, Z., Wu, L., Xu, X., He, M., … Xu, J. (2018). Largely different carotenogenesis in two pummelo fruits with different flesh colors. *PLoS ONE*, *13*(7). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200320

Yoo, K. M., & Moon, B. K. (2016). Comparative carotenoid compositions during maturation and their antioxidative capacities of three citrus varieties. *Food Chemistry*, *196*, 544–549. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.079

Zhang, W., Yu, Y., Xie, F., Gu, X., Wu, J., & Wang, Z. (2019). High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. *LWT*, *116*, 108597. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597

Zhou, J., Yu, X., Ding, C., Wang, Z., Zhou, Q., Pao, H., & Cai, W. (2011). Optimization of phenol degradation by Candida tropicalis Z-04 using Plackett-Burman design and response surface methodology. *Journal of Environmental Sciences*. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60369-5

Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., & Zhou, Z. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*, *196*, 885–896. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072