



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para
el Desarrollo

DESARROLLO DE SHOTS FUNCIONALES A BASE DE
FRUTAS CON PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos

AUTOR/A: Godoy Higuera, Sara

Tutor/a: Albors Sorolla, Ana María

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

DESARROLLO DE “SHOTS” FUNCIONALES A BASE DE FRUTAS CON PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS

S. Godoy Higuera, A.M. Albors Sorolla.

RESUMEN

Actualmente en el mercado se comercializan distintas bebidas funcionales a base de frutas. Sin embargo, aunque en los últimos años haya surgido alguna alternativa en torno a la paliación de dolores menstruales, aún hoy en día existen pocas alternativas para estos casos, los cuales son bastante frecuentes. En el presente estudio se pretende desarrollar tres “shots” complementarios con propiedades antiinflamatorias a base de frutas y harina de algarroba, ofreciendo así una alternativa para aquellas personas que sufren dolores menstruales, a la vez que permite ampliar el mercado de las bebidas funcionales. Las frutas utilizadas aportarán distintos micronutrientes que, entre otras funciones, ayudarán a una mejor absorción del hierro presente en los “shots” así como evitarán la retención de líquidos, la hinchazón, la acumulación de gases y otros síntomas emocionales, y también aportarán compuestos fenólicos, los cuales además de estar relacionados con la capacidad antioxidante, importante también a la hora de disminuir los dolores menstruales, son esenciales para la supresión de la inflamación. Se diseñaron y analizaron tres formulaciones de “shots” utilizando mango, naranja, jengibre y harina de algarroba (MAN85), manzana, limón, jengibre y harina de algarroba (MNZ80) y piña, arándanos, jengibre y harina de algarroba (PIN80), respectivamente. Los “shots” fueron caracterizados mediante el análisis de pH, ° Brix, color, acidez, fenoles totales, capacidad antioxidante, vitamina C, humedad y cenizas con objeto de conocer sus propiedades como alimento funcional.

Palabras clave: frutas, shots, propiedades antiinflamatorias, capacidad antioxidante, fenoles totales, vitamina C.

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL FRUIT-BASED SHOTS WITH ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES

ABSTRACT

Currently, different fruit-based functional beverages are commercialized in the market. However, although in recent years some alternatives have emerged for the alleviation of menstrual pain, there are still few alternatives for these cases, which are quite frequent. The present study aims to develop three complementary shots with anti-inflammatory properties based on fruits and

carob flour, thus offering an alternative for those people who suffer from menstrual pain, while expanding the market for functional beverages. The fruits used will provide different micronutrients that, among other functions, will help to better absorb the iron present in the shots as well as prevent fluid retention, bloating, gas accumulation and other emotional symptoms, and will also provide phenolic compounds, which in addition to being related to antioxidant capacity, also important in reducing menstrual pain, are essential for the suppression of inflammation. Three shot formulations were designed and analysed using mango, orange, ginger and carob flour (MAN85), apple, lemon, ginger and carob flour (MNZ80) and pineapple, blueberry, ginger and carob flour (PIN80), respectively. The shots were characterized by analysing pH, ° Brix, color, acidity, total phenols, antioxidant capacity, vitamin C, moisture and ash in order to determine their properties as functional foods.

Key words: fruits, shots, anti-inflammatory properties, antioxidant capacity, total phenols, vitamin C.

DESENVOLUPAMENT DE “SHOTS” FUNCIONALS A BASE DE FRUITES AMB PROPIETATS ANTIINFLAMATÒRIES

RESUM

Actualment en el mercat es comercialitzen diferents begudes funcionals a base de fruites. No obstant això, encara que en els últims anys haja sorgit alguna alternativa entorn de la pal·liació de dolors menstruals, encara hui dia existeixen poques alternatives per a aquests casos, els quals són bastant freqüents. En el present estudi es pretén desenvolupar tres “shots” complementaris amb propietats antiinflamatòries a base de fruites i farina de garrofa, oferint així una alternativa per a aquelles persones que pateixen dolors menstruals, alhora que permet ampliar el mercat de les begudes funcionals. Les fruites utilitzades aportaran diferents micronutrients que, entre altres funcions, ajudaran a una millor absorció del ferro present en els “shots” així com evitaran la retenció de líquids, la inflor, l'acumulació de gasos i altres símptomes emocionals, i també aportaran compostos fenòlics, els quals a més d'estar relacionats amb la capacitat antioxidant, important també a l'hora de disminuir els dolors menstruals, són essencials per a la supressió de la inflamació. Es van dissenyar i van analitzar tres formulacions de “shots” utilitzant mànec, taronja, gingebre i farina de garrofa (MAN85), poma, llima, gingebre i farina de garrofa (MNZ80) i pinya, nabius, gingebre i farina de garrofa (PIN80), respectivament. Els “shots” van ser caracteritzats mitjançant l'anàlisi de pH, ° Brix, color, acidesa, fenols totals, capacitat antioxidant, vitamina C, humitat i cendres a fi de conèixer les seues propietats com a aliment funcional.

Paraules clau: fruites, shots, propietats antiinflamatòries, capacitat antioxidant, fenols totals, vitamina C.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la popularidad de los alimentos funcionales está creciendo con fuerza en la industria alimentaria. Esto es debido a que, como se ha podido saber en los últimos años, incluirlos en nuestra dieta tiene una gran cantidad de beneficios. Hoy en día podemos encontrar una gran variedad de alimentos funcionales en el mercado. Si hablamos en particular de bebidas funcionales, estas están dando un paso hacia delante en el mercado ante la creciente demanda de las mismas. Según datos del informe “Functional shots Market: Global Industry Trends, Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2021-2026” de IMARC Group publicado en 2021, en el mercado global durante 2015-2020 estas bebidas aumentaron en un 10%, esperándose un fuerte crecimiento en los próximos cinco años. Por otro lado, de acuerdo con Mintel Global New Products Database, las bebidas funcionales se posicionan en el primer puesto en cuanto a lanzamientos de bebidas a nivel mundial, alcanzando un total de 1975 colocaciones en el mercado (García O, 2021).

Por bebida o “shot” funcional se entienden aquellas que, estando científicamente comprobadas, ofrecen beneficios para la salud, el cuidado y bienestar más allá de su valor nutricional básico, sin ser, además, ninguna forma de suplemento alimenticio (Barberá Mateos & Marcos, 2007).

A pesar de, como se ha comentado, haber una creciente oferta y demanda de bebidas funcionales, no existe en el mercado una bebida funcional con altas propiedades antiinflamatorias enfocada a aliviar los síntomas asociados al periodo menstrual. La paliación de los dolores menstruales debidos a la inflamación es un área de investigación muy interesante, ya que, según el Departamento de Salud Pública de California, entre el 30 y el 60% de las mujeres en edad reproductiva afirman haber experimentado dolor menstrual, aunque la proporción de las que informan de un dolor intenso suficiente para interferir en la actividad diaria oscila entre el 7 y el 15% (Harlow et al., 2013). Además, en un estudio sobre las características y el impacto de la menstruación en la mujer española se concluyó que la menstruación tiene un impacto considerable en el 93,4% de las mujeres debido a sus síntomas, siendo los más frecuentes y presentes en al menos el 50% de ellas el dolor abdominal o pélvico, la hinchazón abdominal y el hinchazón o dolor de pechos. Por otra parte, afirma que hasta un 56% de las mujeres de este estudio estarían dispuestas a dejar de tener la menstruación debido a la tranquilidad y la evasión de síntomas que supondría (Martínez San Andrés et al., 2018).

Para alcanzar estas propiedades antiinflamatorias se han seleccionado específicamente materias primas que con sus componentes favorezcan la disminución de estos síntomas menstruales, siendo sus nutrientes más característicos la vitamina C, que ayuda a una mejor absorción del hierro debido a que durante la menstruación se pierde más cantidad de hierro de la que se obtiene de los alimentos (Johnson, 2021) así como contribuir al metabolismo energético normal disminuyendo el cansancio y la fatiga (Berocca Spain, 2021), y los compuesto fenólicos y antioxidantes que son los que proporcionan el efecto antiinflamatorio y antioxidante. Estas materias primas, además de ayudar en la disminución de los dolores menstruales como

ya se ha comentado, proporcionan un sabor agradable, aportando un valor añadido a las formulaciones.

A través del estudio previo comentado anteriormente sobre los componentes con poder antiinflamatorio que posee cada una de las materias primas utilizadas en la elaboración de los “shots”, cabe destacar que en cuanto a las frutas que predominan en las formulaciones, la manzana consumida en forma de jugo ejerce efectos antiinflamatorios gracias a fitoquímicos como la quercetina, las procianidinas y las epicatequinas y el ácido clorogénico de forma que la fibra de la cáscara y estos actúan como prebióticos favoreciendo la expresión y la inhibición de compuestos que favorecen el proceso antiinflamatorio. Por otro lado, la piña posee la bromelaina, enzima proteolítica que en dosis equivalentes a una ingesta mayor o igual a 400g de fruto produce efecto antiinflamatorio al suprimir la señalización inflamatoria del FNkB y, además, el mango posee lupeol, mangiferina, bromelaina, polifenoles y fitoesteroides, los cuales reducen los niveles de mieloperoxidasa reduciendo la infiltración celular en tejidos inflamados y suprimiendo la formación de citoquinas proinflamatorias. Si hablamos de las frutas minoritarias en las formulaciones, la naranja posee aproximadamente de 200 a 600 mg de hesperitina por litro de zumo, 40-140 mg de flavanonas/vaso de 227,2 ml/día lo que reduce la expresión génica de TNF α en macrófagos, inhibe el FNkB y regula expresiones que favorecen positivamente al efecto inflamatorio. En cuanto al limón, este ejerce sus propiedades antiinflamatorias a través del eriodictiol, que al igual que con la naranja y la piña este ejerce sus propiedades antiinflamatorias bloqueando la expresión del FNkB (Caballero-Gutiérrez & Gonzáles, 2016). Por último, el jengibre y los arándanos aporta acción antiinflamatoria y antioxidante a través de los gin-geroles (B. Johnson et al., 2021) y el contenido total de antocianinas (Yang et al., 2022), respectivamente. Otro de los ingredientes que aportarán un valor añadido a los “shots” desarrollados es la harina de algarroba. En este trabajo se ha decidido elegir esta harina por su aporte en hierro. De esta forma, los “shots” elaborados tendrán una distinción respecto a los “shots” que ya existen en el mercado, además de que es una gran fuente de compuestos fenólicos, así como de capacidad antioxidante, dos propiedades muy interesantes para el objetivo del trabajo (Petkova et al., 2017).

El contenido de estos micro y macronutrientes en los “shots”, según bibliografía, aportan valor hacia la obtención de propiedades antiinflamatorias, así como el reducir los síntomas producidos por el periodo menstrual y con todos estos datos es difícil obviar que es un problema bastante globalizado en la mayoría de las personas menstruantes y que se debería explorar la forma de intentar paliar estos dolores a través de productos naturales y de proximidad que posean compuestos antiinflamatorios como fenoles y antioxidantes debido a que la presencia de estos reducen el estrés oxidativo, mejorando el dolor percibido en pacientes (Fernández-Araque et al., 2022).

Es por esto por lo que en este trabajo se pretende desarrollar tres bebidas funcionales complementarias con propiedades antiinflamatorias obtenidas a partir de mango, naranja, jengibre y harina de algarroba (MAN85), manzana, limón, jengibre y harina de algarroba (MNZ80) y piña, arándanos, jengibre y harina de algarroba (PIN80), respectivamente.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas seleccionadas

Para la realización de este trabajo se utilizaron como materias primas mango var. Osteen (M), manzana var. Fuji (MZ), rodajas de piña natural (Surexport Levante S.L., Ribarroja del turia, Valencia) (P), arándanos (CHOP'S FRUITS NV, Ooigem, Bélgica) (A), limón de proximidad (L), zumo de naranja recién exprimido (Mercadona S.A., Tavernes B lanques, Valencia, España) (N), jengibre (Cultivar Madrid S.A., Madrid, España) (J) y harina de algarroba ecológica (Laboratorios Almond D.L., Librilla, Murcia, España) (HA). Estas fueron adquiridas en un establecimiento comercial y se almacenaban a su temperatura óptima de conservación hasta el momento de procesarlas.

2.2. Diseño experimental

En base al estudio bibliográfico previo sobre los componentes con propiedades antiinflamatorias en distintas materias primas de origen vegetal, se consultó la base de datos que permitía diseñar formulaciones con la dosis de estos componentes deseados en los "shots".

La composición de las formulaciones diseñadas en el presente trabajo se muestra en la Tabla 1.

TABLA 1. Formulaciones de los "shots" desarrollados (concentración en 100 g de producto, % p/p).

Mat. Prima	MNG85	MNZ80	PIN80
Mango	85	-	-
Manzana	-	80	-
Piña	-	-	80
Jengibre	3	3	3
Harina de algarroba	0,2	0,2	0,4
Naranja	11,8	-	-
Limón	-	16,8	-
Arándanos	-	-	16,6

2.3. Preparación de los "shots"

Se prepararon 3 formulaciones de "shots" funcionales a base de frutas y harina de algarroba. Para cada formulación se preparó un volumen de muestra de 60 mL, mezclando las materias primas en las proporciones que se indican en la Tabla 1.

Los jugos de estas frutas se obtuvieron a partir de su licuado mediante la licuadora modelo Liquafresh (Taurus, España) a excepción del jugo de limón que se consiguió a partir de un exprimidor modelo 924244000 (Taurus,

España). La harina de algarroba se diluyó en las muestras en su correspondiente proporción una vez que estas estuvieron formuladas.

2.4. Caracterización de los “shots”

Los análisis fisicoquímicos realizados para la caracterización de los “shots” elaborados fueron de pH, °Brix, color, acidez, fenoles totales, capacidad antioxidante, vitamina C, humedad y cenizas.

2.4.1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LOS “SHOTS”

Se ha consultado una base de datos con la composición en macronutrientes y micronutrientes de materias primas vegetales, además de buscar específicamente en fuentes bibliográficas los compuestos antiinflamatorios de interés. A partir de esto, se ha realizado el diseño de las formulaciones y la predicción de su composición nutricional.

TABLA 2. Tabla composicional para cada materia prima utilizada en el diseño de los “shots” elaborados en 100 g. Fuente: BEDCA y Vaillant, 2020.

Materia prima	Agua (g)	Energía (kcal)	Proteína (g)	H de C (g)	Fibra (g)	Vit C (mg)	Fe (mg)	Antocianinas (mg)	Vit A (µg)	Vit E (mg)	
Arándanos	87,8	33	0,6	6,1	4,9	22	0,74	387	5,7	1,9	
Harina de Algarroba	3,6	222	4,6	88,9	40	0,2	2,94	-	1,0	0,6	
Jengibre	88,1	52	17,0	9,5	-	4	0,6	-	5,8	0	
Limón	90,8	17	0,4	3,6	0,1	37	0,1	-	2,0	0,04	
Mango	83,0	59	0,6	13,4	2,3	44	1,2	-	25	1,8	
Manzana	85,7	50	0,3	12,0	2,0	3	0,4	1,3	4,0	0,5	
Naranja	88,6	38	0,8	8,6	2,0	50	0,3	-	46	0,2	
Piña	86,8	49	0,5	11,5	1,2	20	0,5	-	10	0,1	
Materia prima	Folato (µg)	Niacina (mg)	Riboflavina (mg)	Tiamina (mg)	Vit B6 (mg)	Ca (mg)	K (mg)	Mg (mg)	Na (mg)	P (mg)	Zn (mg)
Arándanos	10	0,09	0,02	0,02	0,06	10	78	2,4	1	13	0,13
Harina de Algarroba	29	1,9	0,46	0,053	0,37	348	827	54	35	79	0,92
Jengibre	-	0,8	0,03	0,02	0,16	17	330	35	11	27	0,4
Limón	16	0,1	0,01	0,04	0,05	7	123	6	1	7	-
Mango	31	0,4	0,05	0,03	0,08	20	150	9	2	22	0,10
Manzana	1	0,2	0,04	0,03	0,04	6	99	5	2	9	0,10
Naranja	37	0,3	0,03	0,10	0,06	36	200	12	3	28	0,18
Piña	11	0,3	0,02	0,07	0,09	12	250	14	2	11	0,15

TABLA 3. Tabla composicional para cada "shot" elaborado en 100 g. Fuente: BEDCA y Vaillant, 2020.

SHOTS	Agua (g)	Energía (kcal)	Proteína (g)	Grasas (g)	H de C (g)	Fibra (g)	Vit C (mg)	Fe (mg)	Antocianinas (mg)	Vit A (µg)	Vit E (mg)
MNG85	83,7	57	1,12	0,19	13	2,3	43	1,08	-	27	1,55
MNZ80	86,5	45	0,83	0,04	11	1,7	9	0,36	1	4	0,43
PIN80	86,7	47	1,03	0,12	11	1,9	20	0,55	64	9	0,40
TOTAL PACK	256,8	149	2,98	0,35	34	5,9	72	1,99	65	40	2,39

SHOTS	Folato (µg)	Niacina (mg)	Riboflavina (mg)	Tiamina (mg)	Vit B6 (mg)	Ca (mg)	K (mg)	Mg (mg)	Na (mg)	P (mg)	I (µg)	Se (µg)	Zn (mg)
MNG85	31	0,40	0,05	0,04	0,08	22	162	10	2,5	23	0,24	0,64	0,12
MNZ80	4	0,20	0,04	0,03	0,05	7	111	6,17	2,2	9,34	0,17	0,18	0,09
PIN80	11	0,29	0,02	0,06	0,09	13	226	13	2,2	12	3,61	0,04	0,16
TOTAL PACK	45	0,89	0,11	0,13	0,21	43	500	29	6,9	44	4,01	0,86	0,37

2.4.2. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

A las formulaciones MNG85, MNZ80 y PIN80 se les determinó el contenido en humedad, para lo cual se siguió el método 20.013 AOAC (1997) con algunas modificaciones. Esta determinación se llevó a cabo bajo condiciones específicas de temperatura ($60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, a una presión de 0,7 bar) hasta alcanzar peso constante. El análisis tiene como objetivo la pérdida de peso de la muestra y se realizó por duplicado para cada formulación en una estufa de laboratorio GOLDBRUNN 450 (Goldbrunn, Alemania) y los resultados se expresaron en g agua/100 g de muestra.

2.4.3. DETERMINACIÓN DE LAS CENIZAS Y MINERALES

La determinación de las cenizas y minerales en las formulaciones MNG85, MNZ80 y PIN80 se realizó mediante el método 923.03 de la AOAC (1997) con modificaciones de forma que se incineró completamente la materia orgánica de la muestra en un horno mufla a 500°C durante 5 horas, quedando únicamente el residuo de materia inorgánica. El análisis se realizó por duplicado para cada formulación expresando los resultados en porcentaje (g/100 g de muestra)

2.4.4. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Los °Brix, también expresados como sólidos solubles totales se determinaron usando un refractómetro Bellingham and Stanley mod. RFM300T (Kent, Reino Unido), a 20°C (Córdova Fuentes, 2018). Los grados Brix corresponden, en zumos de fruta, a 1-2% de azúcar en peso, siendo de esta forma útiles a la hora de conocer la cantidad aproximada de azúcares en zumos (Fernández Tüñez, 2016). La determinación se realizó por triplicado para cada muestra.

2.4.5. DETERMINACIÓN DEL pH

La determinación del pH se realizó a 20°C en un potenciómetro con electrodo de punción Crisonbasic 20+ (Barcelona, España). Las mediciones se realizaron por triplicado para cada muestra (Córdoba Fuentes, 2018).

2.4.6. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ

Para la determinación de la acidez total del “shot” se utilizó como método la valoración potenciométrica a pH = 8,1.

En primer lugar, se extrajo un volumen de muestra para introducirlo en un matraz kitasato y así, a través de la conexión de este matraz a vacío y agitación, eliminar el dióxido de carbono presente. A continuación, se tomaron 10 mL de dicho matraz y se realizó una agitación constante para valorar con soluciones de NaOH 0,1 N hasta pH 8,1 a 20 °C con ayuda del indicador de fenoftaleína. Esta operación se realizó por triplicado para cada muestra (BOE-A-1988-11256, 1988).

2.4.7. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.4.7.1. ENSAYO ABTS

El ensayo de ABTS, también conocido como ensayo de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC), se realizó siguiendo el procedimiento establecido por Thaipong et al., 2006, con determinadas modificaciones. Se utilizaron dos disoluciones stock de partida: ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2.45 mM. La disolución de trabajo se preparó a partir de la mezcla de estas disoluciones stock y a continuación, se tuvieron en oscuridad y temperatura ambiente durante una duración de 12 horas. Para establecer si la mezcla se había realizado correctamente, se disolvió el ABTS stock con PBS (pH = 7,4) en relación 1/89 aproximadamente y se midió la absorbancia, mediante el espectrofotómetro Helios Zeta (Thermo scientific, Reino Unido) a una longitud de onda de 734 nm. El resultado debía estar alrededor de $0,70 \pm 0,02$ unidades. Para cada ensayo, se mezclaron 10 μ L de muestra diluida 1:10 con 990 μ L de ABTS stock. Las medidas se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en mg de trolox/L, a partir de una curva estándar lineal entre 0,05-2 mM de trolox/L.

2.4.7.2. ENSAYO DPPH

La capacidad antioxidante fue evaluada usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (adaptado de Brand, et al., 1995). Este método se basa en la capacidad de reacción que tiene este radical con los compuestos antioxidantes de la mezcla, midiéndose de esta forma el proceso característico en el que los compuestos antioxidantes donan un átomo de hidrógeno. En este momento, se puede observar espectrofotométricamente una decoloración desde el color azul-violeta que presenta el DPPH a el amarillo pálido (Castañeda, et al., 2008).

En este caso el Trolox fue usado como antioxidante de referencia y las absorbancias fueron leídas a 515 nm en un espectrofotómetro Helios Zeta (Thermo scientific, Reino Unido). Además, se llevó a cabo un tratamiento

previo sobre las muestras que consistió en una centrifugación a 300 rpm durante 30 segundos, del sobrenadante se tomó 0.1 mL y se añadió 0.2 mL de metanol completándose los 0.3 mL necesarios para continuar con el procedimiento establecido en el método que se presenta en el Anexo I. Este tratamiento fue realizado por triplicado para cada muestra y los resultados fueron expresados en mg de trolox/L (Córdova Fuentes, 2018).

2.4.8. DETERMINACIÓN DE LOS FENOLES TOTALES

El contenido de polifenoles totales se determinó a partir del protocolo establecido por Waterhouse, 2003 con algunas modificaciones. En primer lugar, se preparó una disolución de carbonato de sodio, a partir de la adición de 20 g de Na₂CO₃ anhidro a 80 mL de agua Milli-Q sometiendo la disolución a ebullición con agitación constante. Después, se completó con agua pura hasta un volumen total de 100 mL. Posteriormente, en un eppendorf se adicionó un volumen de muestra de 10 µL, 1,58 mL de agua pura Milli-Q, 100 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (FC). Esta mezcla, adquirió una coloración amarilla y tras esperar de 3 minutos, se añadieron 300 µL de la disolución de Na₂CO₃ preparada anteriormente lo que provocó un cambio de color azul en la mezcla. Por último, se dejaron reposar las disoluciones durante 60 minutos a 30°C en una estufa de laboratorio GOLDBRUNN 450 (Goldbrunn, Alemania) y se midió la absorbancia, por triplicado para cada muestra, a 765 nm. Los resultados obtenidos se expresaron en mg/L de ácido gálico equivalente a partir de una recta de calibrado de 0-1000 mg/L (Ruiz de Assín David, 2021).

2.4.9. DETERMINACIÓN DE LA VITAMINA C

La determinación del contenido de ácido ascórbico o vitamina C se realizó siguiendo la metodología descrita por AOAC (1997) para frutas y vegetales. Consiste en un análisis volumétrico en el que se inactiva la enzima ascorbato oxidasa empleando ácido metafosfórico. El ácido ascórbico se determina a partir de una reacción de reducción sobre el colorante azul 2,6 diclorofenol-indofenol. El método consiste en tomar 5 mL de extracto, adicionar 5 mL de disolución acuosa de ácido metafosfórico al 25% y enrasar a 25 mL con agua destilada y hervida. Tras agitar y filtrar, se valoran 10 mL del filtrado con el indicador hasta alcanzar rosa persistente durante 30 segundos para las tres muestras por triplicado. El resultado se expresó en mg/L de ácido ascórbico a partir de una recta de calibrado de 0-250 mg/L (Cervera, 2016).

2.4.10. DETERMINACIÓN DEL COLOR

El color de cada muestra se midió con el espectrocolorímetro de laboratorio modelo CM-3600D (Konica Minolta, Inc., Tokio, Japón). Para la determinación se utilizó una cubeta para muestras líquidas y se midió el espectro de reflexión entre 400 y 700 nm (Iluminador D65, 10 u observador estándar). Con el espectro de reflexión se obtuvieron las coordenadas CIEL *a*b* de la escala de color. Los parámetros determinados fueron la luminosidad L*(L*= 0 [negro] y L*= 100 [blanco]), la coordenada a*(-a*= verde y +a*=rojo), la coordenada b*(-b*= azul y +b*= amarillo). Los análisis se realizaron por triplicado para cada muestra (Córdova Fuentes, 2018).

2.5. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los distintos métodos fueron analizados estadísticamente mediante el software estadístico Statgraphics XVII-X64 (Manugistics Corp., Rockville, MD) usando el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se utilizó la información obtenida sobre los componentes con propiedades antiinflamatorias presentes en frutas y otras materias primas vegetales que ha permitido diseñar “shots” que incorporen dosis importantes de estos. Además, se consultó la base de datos donde se incluyen los macro y micronutrientes de cada una de las materias primas.

Una vez diseñada la formulación de un “shot” la base de datos utilizada permite calcular automáticamente la composición en macro y micronutrientes de la mezcla obtenida. En la Tabla 4 se pueden observar los valores teóricos para cada uno de los “shots” en cuanto a valor nutricional, mientras que en la Tabla 5 se presentan los valores teóricos en cuanto a los componentes deseados (vitamina C y E, antocianinas, hierro y potasio).

TABLA 4. Valores nutricionales teóricos para cada uno de los “shots” elaborados (g/100g). Fuente: BEDCA.

Formulación	Agua (g)	Energía (kcal)	Proteína (g)	Grasas (g)	Hidratos de carbono (g)	Fibra (g)
MNG85	83,65	56,64	1,12	0,19	12,87	2,27
MNZ80	86,46	44,86	0,83	0,04	10,67	1,70
PIN80	86,67	47,13	1,03	0,12	10,84	1,93
TOTAL	-	-	-	-	34,38	5.9*

*Cumple los requisitos necesarios para ser declarado nutricionalmente según el anexo del reglamento (CE) N° 1924/2006

TABLA 5. Valores teóricos de los componentes deseados y sus posibles declaraciones nutricionales para cada uno de los “shots” elaborados (mg/100g). Fuente: BEDCA y Vaillant, 2020.

Formulación	Vitamina C (mg)	Antocianinas (mg)	Vitamina E (mg)	K (mg)	Fe (mg)
MNG85	43,42*	-	1,55	162,65	1,08
MNZ80	8,74	1,04	0,43	111,42	0,36
PIN80	19,77*	64,18**	0,40	226,16	0,55
TOTAL	70,93*	65,22**	2,39*	500,23*	1,99

*Cumple los requisitos necesarios para ser declarado nutricionalmente según el anexo del BOE-A-2009-17652 (2009) **Cumple los requisitos necesarios para declararse como una cantidad diaria ingerida por encima de la cantidad diaria normalmente consumida (12,5 mg/día/persona) (Vaillant, 2020)

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar tres “shots” complementarios en cuanto a su efecto antiinflamatorio y se han tenido en cuenta las declaraciones nutricionales tanto individualmente como en conjunto. Según el diseño planteado los “shots” formulados cumplirían este objetivo.

Tal y como se muestra en las Tablas 4 y 5 y siguiendo las declaraciones nutricionales autorizadas en el anexo del BOE-A-2009-17652 (2009) se puede declarar para los “shots” en conjunto: son productos sin grasa, sin azúcares añadidos, fuente de fibra, fuente de potasio y alto contenido de vitamina C. Si hablamos de los “shots” de manera individual, la formulación MNG85 es fuente de vitamina C y la formulación PIN80 es fuente de vitamina C y de antocianinas. Cabe destacar además que finalmente no se puede declarar ni en conjunto ni individualmente que algún “shot” sea fuente de hierro debido a que no se llega a un aporte de 2,1 mg ya que el conjunto de “shots” aporta, teóricamente, 1,99 mg de hierro.

El interés de poder declarar nutricionalmente estos componentes y no otros es debido a que el hierro es un micronutriente que durante la menstruación se pierde en más cantidad de la que se obtiene de los propios alimentos y que a raíz de ello existe mayor número de mujeres con anemia que hombres (Relación entre anemia y menstruación, 2022). Por otro lado, en cuanto a vitaminas, la vitamina C mejora la absorción del hierro y contribuye al metabolismo energético normal disminuyendo el cansancio y la fatiga (Berocca Spain, 2021) y la vitamina E se ha comprobado que disminuye el dolor relacionado con el periodo (Ziaei et al., 2005). En cuanto al potasio, este evita retención de líquidos, la hinchazón, la acumulación de gases y otros síntomas emocionales (Vicente, 2021). Por último, las antocianinas se ha demostrado que poseen propiedades antiinflamatorias (León García, 2014) lo que resulta ser uno de los objetivos del trabajo.

3.1. Propiedades fisicoquímicas de los “shots” elaborados

En la Tabla 6 se encuentran los resultados de las propiedades fisicoquímicas de los “shots” elaborados.

En cuanto a la humedad se observa que para los tres “shots” los valores se encuentra entorno al 80-85% existiendo diferencias significativas entre ellos. Si comparamos los valores con los que se muestran en la Tabla 2 para la fracción de agua en las formulaciones, se puede afirmar que los valores obtenidos experimentalmente son acordes a los predichos.

En el caso de la determinación de las cenizas y minerales, el mayor o menor contenido de cenizas está relacionado con el contenido de materia inorgánica y al contenido en minerales. A la vista de los resultados puede observarse que la formulación con mayor contenido en minerales es MNZ80 y la de menor PIN80, existiendo diferencias significativas entre las tres formulaciones. Este resultado difiere de lo esperado en las tablas de composición teóricas.

Por otro lado, en cuanto a los valores obtenidos de °Brix y pH para cada “shot” formulado, se puede observar que para ambos parámetros existen diferencias significativas entre formulaciones. Todos los valores están en el rango de productos de baja acidez y pH (<3,7). El hecho de que todas las formulaciones posean un pH inferior a 4,6 favorece la conservación del producto, así como el empleo de tratamientos térmicos más suaves para su conservación (BOE-A-1978-25634, 1978).

Además, puede observarse que para ambos parámetros los resultados corresponden aproximadamente con los presentes en la Tabla 7 para cada

una de las materias primas predominantes en la formulación, todas ellas están entre los 12,6 -15 ° Brix y pH 3 – 3,7 (MNZ80 - MNG85, respectivamente). El interés de determinar estas propiedades para cada componente del “shot” individualmente es debido a la posible necesidad de corrección en cuanto a dulzor y acidez para alcanzar así un balance sensorial en cada formulación.

Por último, en los valores obtenidos de la acidez se observaron diferencias significativas entre todas las formulaciones, siendo el “shot” MNZ80 el más ácido con diferencia y MNG85 y PIN80 los menos ácidos, estando estos dos últimos en el mismo rango de valores (50 meq ácido málico/L). Estos resultados se expresaron en meq de ácido málico/L ya que es el ácido común presente en todas las frutas predominantes de las formulaciones trabajadas y siguen la tendencia comentada en cuanto a pH y °Brix.

TABLA 6. Humedad, Brix, Cenizas, pH y Acidez medias y desviación estándar para cada formulación de “shots”

Formulación	Humedad (g de agua/100 g de muestra)	°Brix	Cenizas (g/100 g de muestra)	pH	Acidez (meq ácido málico/L)
MNG85	0,812 (0) ^a	15 (0) ^c	2,53E-03 (4,0E-04) ^b	3,687 (0,006) ^c	52 (1) ^b
MNZ80	0,867 (0,001) ^c	12,63 (0,06) ^a	3,81E-03 (1,5E-04) ^c	3,043 (0,006) ^a	99 (3) ^c
PIN80	0,852 (0,002) ^b	13,67 (0,06) ^b	1,38E-03 (2,3E-04) ^a	3,573 (0,012) ^b	47 (1) ^a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

TABLA 7. Resultados de pH y Brix para cada zumo individual.

Formulación	pH	Brix
Arándanos	3 (0) ^b	12 (0) ^d
Jengibre	5,947 (0,006) ^g	3,03 (0,06) ^a
Limón	2,497 (0,006) ^a	8,97 (0,06) ^b
Mango	4 (0) ^e	16 (0) ^g
Manzana	3,90 (0,01) ^f	13,53 (0,06) ^e
Naranja	3 (0) ^c	11,17 (0,06) ^c
Piña	3,59 (0,01) ^d	14,37 (0,06) ^f

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

3.2. Capacidad antioxidante de los “shots” elaborados

Las frutas y los zumos de fruta presentan importantes propiedades antioxidantes debido a la presencia de las vitaminas A, C, E y de compuestos fenólicos, entre otros (Zulueta, et al., 2007). En este trabajo, la capacidad antioxidante (CA) de los 3 tipos de “shots” se determinó mediante 2 ensayos diferentes. Los resultados obtenidos en la determinación de capacidad antioxidante (CA) de los zumos mediante los ensayos DPPH y ABTS se muestran en la Tabla 8.

A través del método de ABTS no se encontraron diferencias significativas en relación con los “shots” de MNG85 y MNZ80, mientras que para el método DPPH sí se encontraron entre los tres tipos de “shots”. La formulación PIN80, elaborada a base de piña, fue la que presentó unos valores mayores de

capacidad antioxidante (CA), mientras que las formulaciones MNG85 y MNZ80, elaborada a base de mango y manzana, respectivamente fueron las que menos propiedades antioxidantes mostraron. Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los observados en otros estudios, en los cuales se encontraron menores efectos antioxidantes en el zumo de mango frente a los zumos de manzana y piña (Barrón-García et. al., 2022), (Zapata et al. 2019). De acuerdo con estos estudios, existen importantes diferencias en los valores de la capacidad antioxidante de los distintos tipos de fruta. Barrón-García et. al., (2022) encontró valores en torno a 8 mg Trolox/L para el zumo de mango mientras que para los zumos de manzana y piña Odriozola-Serrano et al. (2022) obtuvieron valores de 170 y 926 mg Trolox/L para ambos zumos, respectivamente

TABLA 8. Resultados de los ensayos de CA (DPPH, ABTS) para cada formulación.

Formulación	DPPH mg de trolox/L	ABTS mg de trolox/L
MNG85	21 (2) ^a	13 (1) ^a
MNZ80	27 (2) ^b	14,3 (0,6) ^a
PIN80	34 (1) ^c	20 (2) ^b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%.

Tal y como se muestra en la figura 1, los valores medidos de ambos parámetros (DPPH, ABTS) mantienen la misma tendencia, pero sus valores difieren. Cabe destacar que el ensayo ABTS suele ser más sensible en cuanto a la medición de la capacidad antioxidante y de ahí que entre ambos parámetros los valores difieran.

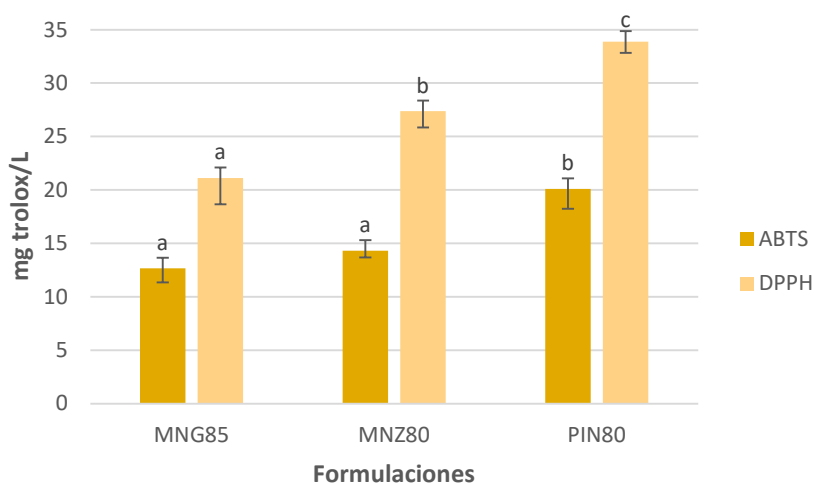


FIGURA 1. Comparativa entre ambos métodos (ABTS, DPPH) utilizados en la medición de la capacidad antioxidante (CA) de los "shots" formulados.

3.3. Contenido en fenoles totales de los “shots” elaborados

En el caso de la determinación de los fenoles totales (FT) los resultados se encuentran en la Tabla 9, en ella se puede observar que no existen diferencias significativas entre los “shots” MNG85 y MNZ80, siendo el que posee mayor contenido en fenoles totales (FT) la formulación PIN80.

Comparando con otros estudios el contenido de fenoles totales (FT) para las frutas mayoritarias presentes en las formulaciones, se ha encontrado que, en cuanto al zumo de piña, según Odriozola-Serrano et al. (2022) se obtuvieron valores inferiores, en torno a 276 mg AGE/L mientras que para Shamsudin et al. (2014) los valores determinados fueron muy superiores del orden de 825 mg AGE/L. Por otro lado, para la formulación MNG85 el contenido de fenoles totales (FT) se encuentra cercano al determinado por Abdelmaksoud et al. (2018) que fue de 323,6 mg AGE/L para el zumo de mango. Por último, en el caso del zumo de manzana para la formulación MNZ80, comparando con los análisis realizados por Odriozola-Serrano et al. (2022) se observa que el resultado obtenido es menor, ya que estos autores obtienen valores en torno a 547 ± 5 mg/L.

El hecho de que los resultados obtenidos de fenoles totales (FT) difieran levemente, salvo excepciones (PIN80), frente a los típicos obtenidos en la bibliografía puede ser debido a la acción de la PPO mediante la oxidación de los tres “shots”, pudiendo reducir el valor de fenoles totales (FT) en torno a 100 mg/L en 30 minutos (Ruíz de Assín, 2021) así como a la variedad de fruta elegida, su maduración, el contenido en fibra que esta posea y la mezcla de las materias primas utilizadas para el diseño de los “shots” y la interacción entre ellas (Barrón-García et al., 2022).

Además, se puede observar que en esta determinación se sigue la misma tendencia que en el caso de la determinación de capacidad antioxidante (CA), a excepción de que en el caso del ensayo DPPH sí que existen diferencias significativas entre los “shots” MNG85 y MNZ80. Esto tiene sentido debido a que los compuestos fenólicos tienen carácter antioxidante a través de su habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres (García Martínez et al., 2020) por lo que ambas propiedades estarían relacionadas.

TABLA 9. Resultados de fenoles totales para cada formulación.

Formulación	mg AGE/L
MNG85	218 (10) ^a
MNZ80	310 (39) ^a
PIN80	415 (35) ^b

Letras distintas indican diferencias significativas al 95%.

3.4. Contenido en vitamina C de los “shots” elaborados

En la Tabla 10 se encuentran los resultados obtenidos de vitamina C para cada una de las formulaciones, en ella se puede observar como la formulación con mayor cantidad de vitamina C es PIN80 mientras que la de menos es MNZ80, además de que existen diferencias significativas entre los tres tipos de “shots”. Si comparamos con los valores teóricos obtenidos a través de la

base de datos BEDCA, para cada una de las formulaciones a partir de sus mezclas (MNG85, MNZ80, PIN80) vemos que tenemos valores de 43,42; 8,74 y 19,77 mg de ácido ascórbico/100 mL de zumo, respectivamente.

A partir de esta información podemos concluir que los valores que difieren en el caso de los “shots” MNG85 y PIN80 pueden ser debido a la madurez de las frutas, así como de la variedad escogida y el tratamiento de estas a la hora de la determinación, mientras que para la formulación MNZ80 posiblemente también hayan influido estos factores, pero en menor medida.

TABLA 10. Contenido de vitamina C en cada formulación.

Formulación	mg ácido ascórbico/100 mL zumo
MNG85	20 (2) ^b
MNZ80	7 (2) ^a
PIN80	39 (2) ^c

Letras distintas indican diferencias significativas al 95%.

3.5. Análisis del color para los “shots” diseñados

Los valores de las coordenadas de color $L^*a^*b^*$ se observan en la Tabla 11 y se encuentran representados en los diagramas cromáticos de la figura 3. En resumen, indican que la luminosidad es significativamente mayor en el “shot” MNG85 que en los otros dos (MNZ80, PIN80), siendo la menos luminosa el “shot” PIN80. También cabe destacar que en la práctica se observó que la adición de harina de algarroba afectaba directamente a la luminosidad de las formulaciones. Los “shots” MNZ80 y PIN80 poseen valores similares en la luminosidad, teniendo esta última el doble de harina de algarroba puesto que el color del arándano permitía mitigar el efecto sobre el color de la incorporación de dicha harina. “Shots” más oscuros permitirían una adición ligeramente superior de harina de algarroba y aportaríamos compuestos fenólicos, antioxidantes y hierro (Petkova et al., 2017).

En cuanto a la coordenada a^* se puede observar que todas las formulaciones tienen valores positivos de esta, lo que indica que tienden a colores rojizos y en el caso de la coordenada b^* cabe destacar que, aunque todos los “shots” posean valores positivos de esta coordenada, existe mayor diferencia entre PIN80 y los otros “shots” lo que indica que este “shot” tiende hacia tonos morados, mientras que MNG85, MNZ80 lo hace a tonos amarillos. Además, es de mencionar que tanto para los valores de L^* , como para los de a^* y b^* existen diferencias significativas entre formulaciones para cada columna.

Los resultados obtenidos son acordes a lo esperado según puede apreciarse al observarlos visualmente, figura 2, donde comparando con los resultados de la Tabla 11 se observa que la formulación MNG85 tiende a amarillo anaranjado, MNZ80 posee un color naranja-marrón y PIN80 es morado, siendo esta última la que posee un color más oscuro y el “shot” MNG85 el de color más vívido.

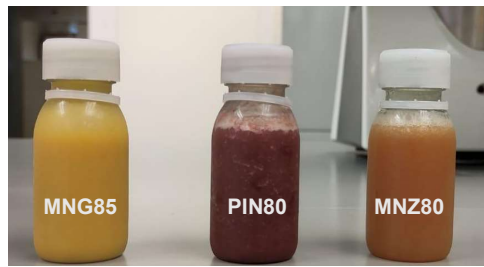


Figura 2. Formulaciones de los “shots” analizados (MNZ80, MNG85 y PIN80)

TABLA 11. Coordenadas de color obtenidas para cada formulación.

Formulación	L*	a*	b*
MNG85	62,30 (0,14) ^c	9,51 (0,05) ^c	40,05 (0,03) ^c
MNZ80	37,86 (0,15) ^b	5,57 (0,04) ^a	13,52 (0,03) ^b
PIN80	31,31 (0,04) ^a	8,25 (0,01) ^b	4,03 (0,04) ^a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas al 95%. L*= luminosidad, a*= rojo/verde, b*= amarillo/azul.

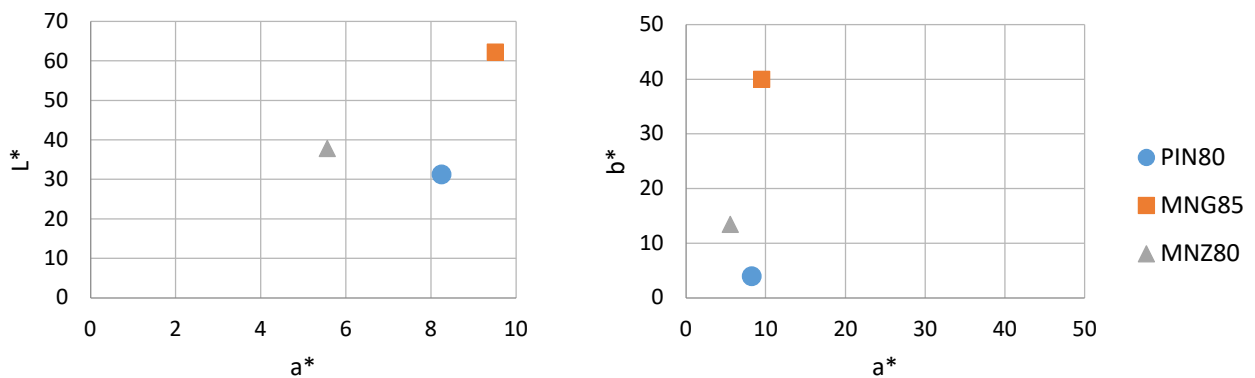


FIGURA 3. Diagrama L* vs a* (izquierda) y diagrama cromático b* vs a* (derecha) para todas formulaciones.

4. CONCLUSIONES

Los “shots” diseñados en su conjunto son productos sin grasa, sin azúcares añadidos, fuente de fibra, fuente de potasio y poseen un alto contenido en vitamina C. Es de mencionar que individualmente la formulación PIN80 superaría la dosis diaria de antocianinas normalmente consumida por persona y día.

En cuanto a las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las formulaciones diseñadas se puede decir que los resultados obtenidos siguen la tendencia esperada según el diseño teórico de las formulaciones de los tres “shots”. Si bien, no se han conseguido los valores esperados en cuanto a capacidad antioxidante, en cuanto fenoles totales si se han alcanzado los contenidos próximos a los predichos. Además, las tres formulaciones poseen un color y un sabor atractivo para el potencial consumidor.

Con todo esto podemos afirmar que teórica y experimentalmente las tres formulaciones ayudan potencialmente a mitigar los síntomas menstruales más frecuentes, así como además ser una alternativa saludable, distintiva y rica en cuanto a “shots” funcionales.

5. REFERENCIAS

- Abedelmaksoud, T. G., Mohsen, S. M., Duedahl-Ol, L., Elnikeety, M. M., & Feyissa, A. H. (2018). Effect of ohmic heating parameters on inactivation of enzymes and quality of not-from-concentrate Mango Juice. *Asian Journal of Scientific Research*, 11(3), 383–392. <https://doi.org/10.3923/ajsr.2018.383.392>
- Barberá Mateos, J. M., & Marcos, A. (2007). *Alimentos Funcionales: Aproximación a una nueva alimentación*. Comunidad de Madrid; Instituto de Nutrición y Trastornos Alimentarios.
- Barrón-García, O. Y., Morales-Sánchez, E., Ramírez Jiménez, A. K., Antunes-Ricardo, M., Luzardo-Ocampo, I., González-Jasso, E., & Gaytán-Martínez, M. (2022). Phenolic compounds profile and antioxidant capacity of ‘ataulfo’ mango pulp processed by ohmic heating at moderate electric field strength. *Food Research International*, 154, 111032. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111032>
- Berocca Spain. (2021). *Vitamina C para tener energía y una vida activa: Berocca®*. Consultado el 24 de agosto de 2022 desde <https://www.berocca.es/como-funciona-berocca/vitamina-c-para-tener-energia-y-una-vida-activa>
- BOE-A-1988-11256 (1988). Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno, Orden de 27 de abril de 1988 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis de zumos de uva.
- BOE-A-2009-17652 (2009). Ministerio de la Presidencia, Real Decreto 1669/2009, de 6 de noviembre, por el que se modifica la norma de etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 930/1992, de 17 de julio.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
- Caballero-Gutiérrez, L.; Gonzáles, G. F. (2016). Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta medica peruana*, 33(1), 50. <https://doi.org/10.35663/amp.2016.331.18>
- Castañeda, C. B., Ramos, LL. E., Ibáñez, V. L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, 8(1).
- Cervera March, J. (2016). Evaluación del potencial nutraceutico de extractos de mora (Morus alba). Valencia; Universitat Politècnica de València.
- Córdova Fuentes, E. T. (2018). Caracterización y capacidad antioxidante de bebidas vegetales a base de horchata y pulpas de fresa, guayaba y mango. Valencia; Universitat Politècnica de València. Disposiciones generales. [Internet].
- Fernández-Araque, A., Verde, Z., Torres-Ortega, C., Sainz-Gil, M., Velasco-Gonzalez, V., González-Bernal, J. J., Mielgo-Ayuso, J. (2022). Effects of antioxidants on pain perception in patients with fibromyalgia—a systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(9), 2462. <https://doi.org/10.3390/jcm11092462>
- Fernández Túniz, C. (2016). Estudio del proceso de obtención de un zumo de arándano de alta calidad. Valencia; Universitat Politècnica de València.
- García Martínez, E., Fernández Segovia, I., Fuentes López, A. (2020). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Valencia; Universitat Politècnica de València.
- García, O. (2021). *Shots HPP funcionales: Lo último en cuidado y bienestar*. Hiperbaric. Consultado agosto 20, 2022, desde <https://www.hiperbaric.com/es/shots-hpp-funcionales-lo-ultimo-en-cuidado-y-bienestar/>
- Harlow, S. D., Windham, G. C., Paramsothy, P. (2013). Menstruation and menstrual disorders. *Women and Health*, 163–177. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384978-6.00012-1>
- Johnson, J. B., Mani, J. S., White, S., Brown, P., Naiker, M. (2021). Quantitative profiling of Gingerol and its derivatives in Australian ginger. *Journal of Food Composition and Analysis*, 104, 104190. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104190>

- Johnson, L. E. (2022). *Déficit de Hierro - Trastornos nutricionales*. Manual MSD versión para público general. Consultado el 10 de Junio de 2022, desde <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/trastornos-nutricionales/minerales/d%c3%a9ficit-de-hierro?autoredirectid=20471>
- León García, M. M. (2014). Actividades antiinflamatorias del camote morado (*Ipomea batatas*) y zanahoria negra (*Daucus carota* ssp. *sativus*) en las células intestinales del miofibroblasto (CCD-18Co). Zamorano, Honduras; Escuela Agrícola Panamericana.
- Martínez San Andrés, F., Parera Junyent, N., Rius Tarruella, J. (2018). Características e Impacto de la Menstruación en la mujer española: El Porqué del Interés de la Posibilidad de Supresión de la menstruación. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 5(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.medre.2017.10.002>
- Odriozola-Serrano, I., Bellí, G., Puigpinós, J., Herrero, E., Martín-Belloso, O. (2022). Screening the antioxidant activity of thermal or non-thermally treated fruit juices by in vitro and in vivo assays. *Beverages*, 8(2), 36. <https://doi.org/10.3390/beverages8020036>
- Official methods of analysis of AOAC International [Recurso electrónico-CD-ROM]* (16th ed., 3rd rev.). (1997). AOAC International.
- Reglamento (CE) n o 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. Parlamento y Consejo de la Unión Europea (2006).
- Petkova, N., Petrova, I., Ivanov, I., Mihov, R., Hadjikinova, R., Ognyanov, M., Nikolova, V. (2017). Nutritional and antioxidant potential of carob (*Ceratonia siliqua*) flour and evaluation of functional properties of its polysaccharide fraction. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 2189–2195.
- BOE-A-1978-25634 (1978). Presidencia del Gobierno, Real Decreto 2420/1978, de 2 de junio, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y venta de conservas vegetales. 23702–23707.
- Relación entre anemia y menstruación*. (s.f.) Tu canal de salud. (2022). Consultado desde <https://www.tucanaldesalud.es/es/canalciencia/articulos/relacion-anemia-menstruacion>
- Ruiz de Assin David, E. (2021). Impacto de la magnetización del material uvm-7 funcionalizado sobre los compuestos bioactivos del zumo de manzana y su posible reutilización. Valencia; Universitat Politècnica de València.
- Shamsudin, R., Mohd Adzahan, N., Pui Yee, Y., Mansor, A. (2014). Effect of repetitive ultraviolet irradiation on the physico-chemical properties and microbial stability of Pineapple Juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 23, 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.02.005>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of Abts, DPPH, FRAP, and Orac assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Vaillant, F. (2020). Blackberries. *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*, 407–422. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812780-3.00025-8>
- Vicente, M. (2021). *Qué comer durante la menstruación*. Consultado el 20 de agosto de 2022 desde <https://www.mundodeportivo.com/uncomo/salud/articulo/que-comer-durante-la-menstruacion-42370.html#:~:text=Alimentos%20ricos%20en%20potasio,-Entre%20los%20nutrientes&text=Por%20todo%20ello%20es%20que.gases%20y%20otros%20s%C3%ADntomas%20emocionales>
- Waterhouse, A. L. (2003). Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faa0101s06>
- Yang, W., Guo, Y., Liu, M., Chen, X., Xiao, X., Wang, S., Gong, P., Ma, Y., Chen, F. (2022). Structure and function of Blueberry Anthocyanins: A review of recent advances. *Journal of Functional Foods*, 88, 104864. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104864>
- Zapata Londoño, M. B., Ramos Polo, A. R., Alzate Arbelaez, A. F., Rojano, B. A., Maldonado Celis, M. E. (2019). Behavior of bioactive compounds and antioxidant activity of Mango (azúcar cultivar) juice during storage at 4 °c. *Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín*, 72(1), 8743–8750. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n1.72628>
- Ziaei, S., Zakeri, M., Kazemnejad, A. (2005). A randomised controlled trial of vitamin E in the treatment of primary dysmenorrhoea. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 112(4), 466–469. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00495.x>

Zulueta, A., Esteve, M. J., Frasquet, I., Frígola, A. (2007). Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. *Food Chemistry*, 103(4), 1365–1374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.052>

ANEXO I

Análisis de capacidad antioxidante mediante DPPH.

- **Preparación de disoluciones:**

- *Solución de DPPH:* se pesan 12,8 mg de DPPH y se disuelven en 50 ml de metanol. A partir de esta disolución se realiza una dilución 1:10 en 200 ml de metanol.
- *Solución madre de Trolox (1000 ppm):* se pesan 5 mg de Trolox y se disuelven en 5 ml de metanol. A partir de esta disolución se prepara una solución de Trolox de 100 ppm (500 µL solución 1000 ppm en 4500 µL de metanol).
- Utilizando la disolución de 100 ppm se preparan las siguientes diluciones para realizar la recta de calibrado:
 - **10 ppm:** 150 µl disolución 100 ppm + 1350 µl de metanol
 - **20 ppm:** 300 µl disolución 100 ppm + 1200 µl de metanol
 - **30 ppm:** 450 µl disolución 100 ppm + 1050 µl de metanol
 - **40 ppm:** 600 µl disolución 100 ppm + 900 µl de metanol
 - **50 ppm:** 750 µl disolución 100 ppm + 750 µl de metanol

- **Preparación de las cubetas:**

- *Blanco:* 3 ml metanol
- *Cero:* 300 µl metanol + 2,7 ml DPPH
- *Patrones de recta de calibrado:* 300 µl patrón + 2,7 ml DPPH
- *Muestras:* 6 µl muestra + 294 µl metanol + 2,7 ml DPPH
- **Incubación 1 h en oscuridad**

- **Medición:**

- Espectrofotómetro: 517 nm

$$\%SE = \left[1 - \frac{Abs\ Muestra\ 517\ nm}{Abs\ control\ 517\ nm} \right] * 100$$