AVANCES EN HORTICULTURA - REVIEW

Alternatives for beet (*Beta vulgaris* L.) leaves revalorization - A bibliographic review



Revisión bibliográfica sobre alternativas para la revalorización de hojas de remolacha (*Beta vulgaris* L.)

Nutter, J.^{1,2*}; Fernández, M.V.^{1,2}; Jagus, R.J.^{1,2}; Agüero, M.V.^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química. Laboratorio de Investigación en Tecnología de Alimentos. Buenos Aires, Argentina.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Tecnologías y Ciencias de la Ingeniería (INTECIN), Buenos Aires, Argentina. *Autor de correspondencia: jnutter@fi.uba.ar

Recibido: 11/08/2020 Aceptado: 20/10/2020

ABSTRACT

Nutter, J.; Fernández, M. V.; Jagus, R. J.; Agüero, M. V. 2020. Alternatives for beet (*Beta vulgaris* L.) leaves revalorization - A bibliographic review. Horticultura Argentina 39 (100): 249-271.

Red beet plants (Beta vulgaris L.) are widely cultivated for the consumption of generating considerable their roots, amounts of byproducts. In particular, beet leaves represent about 50% of the whole plant's weight and are usually discarded by the producer or the consumer. This practice reduces significantly the efficiency of the production process and constitutes not only an economic issue but also a serious environmental problem. However, beet leaves represent a valuable and inexpensive source of nutrients, minerals, fiber, and bioactive compounds. **Traditional** revalorization techniques do not allow to completely exploit the high biological potential of this byproduct. The present work aims to review the literature concerning some of the latest and most innovative beet leaves' revalorization strategies for human consumption. This includes, i) the development of minimally processed foods preserved by non-heat treatments, ii) the inclusion of beet leaves as ingredients in the formulation of vegetable smoothies, iii) the development of extracts bioactive compounds in antimicrobial capacity, and iv) the development fortified vegetable of smoothies. These strategies consider the demands of different stakeholders (consumers, producers, and environmental entities) towards nutritive and natural foods produced under more efficient, profitable, and environmental-friendly processes.

Additional Keywords: Sustainability; byproducts; biomass utilization; new foods for human consumption; preservation strategies.

RESUMEN

Nutter, J.; Fernández, M. V.; Jagus, R. J.; Agüero, M. V. 2020. Revisión bibliográfica sobre alternativas para la revalorización de hojas de remolacha (*Beta vulgaris* L.). Horticultura Argentina 39 (100): 249-271.

Las plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L.) son cultivadas por el consumo de sus raíces, grandes cantidades generando subproductos. En particular, las hojas representan alrededor del 50% del peso de toda la planta y suelen ser descartadas por el productor o el consumidor. Esta práctica reduce significativamente la eficiencia del proceso de producción y genera no sólo un impacto económico, sino también un serio problema de contaminación ambiental. Sin embargo, las hojas de remolacha representan una fuente valorable y accesible de nutrientes, minerales, fibra dietaria y compuestos bioactivos. Las técnicas tradicionales de revalorización no permiten explotar por completo el potencial que, debido a su alto valor biológico, posee este subproducto. El presente trabajo tiene por objetivo realizar una revisión bibliográfica sobre algunas de las estrategias más recientes e innovadoras de revalorización de hojas de remolacha destinadas al consumo humano. Entre ellas se encuentran i) el desarrollo de alimentos mínimamente procesados conservados mediante tratamientos no térmicos. ii) incorporación de hojas de remolacha como ingredientes en la formulación de batidos vegetales, iii) el desarrollo de extractos ricos en compuestos bioactivos y con capacidad antimicrobiana y iv) el desarrollo de batidos vegetales fortificados. Estas estrategias contemplan las exigencias de (consumidores, diferentes sectores productores y entidades conservacionistas) hacia el desarrollo de alimentos nutritivos y naturales, obtenidos mediante procesos más eficientes y rentables de bajo impacto ambiental.

Palabras claves adicionales: sustentabilidad; subproductos; utilización de biomasa; nuevos alimentos para consumo humano; estrategias de conservación.

1. Introducción

De acuerdo con el estudio llevado a cabo por la *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura* (FAO, 2011) en su iniciativa global para la reducción de pérdidas y desperdicios de alimentos, un tercio de la producción mundial de alimentos destinados al consumo humano se pierden o desperdician cada año (Gustavsson *et al.*, 2011). Esta biomasa desaprovechada es generada en grandes cantidades en las diferentes etapas de la cadena agroalimentaria, desde la producción agrícola hasta el consumo final en los hogares. El término "pérdida" de alimentos hace referencia a la disminución de las porciones comestibles durante las etapas de producción, postcosecha y procesamiento, concepto que abarca dos tipos diferentes de descartes: 1) materias primas consideradas defectuosas o carentes de los requisitos mínimos para su procesamiento y 2) porciones de la planta que, a pesar de encontrarse en perfectas condiciones, no son utilizadas masivamente y suelen ser descartadas durante las primeras etapas del procesamiento (subproductos) (Clemente et al., 2015; Galanakis, 2012; Gustavsson *et al.*, 2011). Mientras que, las pérdidas producidas al final de la cadena alimentaria, es decir, durante la venta minorista y consumo, son conocidas como "desperdicios" (Gustavsson *et al.*, 2011).

La gran cantidad de subproductos generados a lo largo de la cadena alimentaria reduce significativamente la eficiencia del proceso de producción y genera no sólo un impacto económico para el productor, sino también un serio problema de contaminación ambiental (Mirabella *et al.*, 2014). En primer lugar, las pérdidas económicas resultan del

desaprovechamiento del propio alimento, así como también de los múltiples recursos destinados en vano a su producción (agua, suelo, energía, mano de obra, entre otros) (Gustavsson, *et al* 2011; Fernández *et al.*, 2017a). Asimismo, la gestión y el tratamiento de estos subproductos, lejos de brindar un rédito económico que permita mitigar las pérdidas, encarece los costos asociados al proceso de producción. Por otra parte, el descarte de productos que no serán consumidos representa una fuente importante de polución (Galanakis, 2012; Vulic *et al.*, 2012), a la vez que contribuye con la generación de emisiones innecesarias y evitables de gases de efecto invernadero (Gustavsson *et al.*, 2011; Mirabella *et al.*, 2014).

El manejo de residuos y subproductos a través de estrategias sustentables es uno de los desafíos más importantes que debe afrontar la agroindustria. Si bien muchos de estos sustratos derivados de fuentes vegetales han sido tradicionalmente utilizados como alimento para animales o como fertilizantes, esta estrategia de revalorización no permite explotar por completo el potencial que, debido a su alto valor biológico, poseen estos subproductos (Clemente *et al.*, 2015; Galanakis, 2012; Schieber *et al.*, 2001). Por esta razón, durante los últimos años se ha prestado especial atención a la utilización de esta biomasa como fuente promisoria de compuestos funcionales (fibra dietaria, pectinas, hemicelulosa, fitoquímicos, aceites esenciales, entre otros) con potencial tecnológico para ser aplicados en las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética y textil (Fernández *et al.*, 2020a; Guneser, 2018; Otálora *et al.*, 2020; Płatosz *et al.*, 2020; Sánchez-Chávez *et al.*, 2015).

Es importante tener en cuenta que tan sólo en Argentina, 16 millones de toneladas de alimentos se pierden o desperdician anualmente, según registros del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (Rivas et al., 2015), de las cuales, cerca de la mitad corresponde a frutas y hortalizas. En este sentido, la búsqueda de alternativas para la revalorización de esta biomasa desaprovechada se asume como una de las prioridades establecidas por el Programa Nacional de Reducción de Pérdidas y Desperdicios de Alimentos (Ley Nacional 27.454/2018) en el marco de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas (FAO, 2017). Dentro de las hortalizas, aquellas que se cultivan para el consumo de sus raíces (como remolacha, zanahoria y rabanito, entre otras) generan grandes cantidades de subproductos, como resultado del descarte de sus partes aéreas (hojas y tallos), pudiendo representar entre un 25 y 75% de toda la planta (Fernández et al., 2017a; Goyeneche et al., 2015). En particular, en el caso de las plantas de remolacha (Beta vulgaris L.) esta cifra fue estimada en estudios recientes (Fernández et al., 2017a), correspondiendo un 46% de su peso a las hojas y considerando que el Mercado Central de Buenos Aires recibe un promedio anual de 5019 toneladas de esta materia prima, unas 2300 toneladas de biomasa cosechada se estaría descartando.

La remolacha es una hortaliza bianual, perteneciente a la familia *Chenopodiaceae*, compuesta por una raíz principal, de color rojo a morado, formada por anillos concéntricos de tejido xilemático, cuya región superior consiste en un engrosamiento de la parte baja del tallo. Éste se ramifica en un par de cotiledones, de los que se desarrollan pares de hojas ovaladas de color verde intenso a pardo rojizo. Existen tres variedades de interés, var. conditiva, consumida como hortaliza, var. altissima, destinada a la industria azucarera y var. alba, usualmente utilizada como alimento para ganado (Valdés-Agueta, 2018).

Una encuesta realizada por nuestro grupo de investigación acerca del uso que se le da en Argentina a las hojas de remolacha, señaló que sólo el 21% de los encuestados consume tanto las raíces como las hojas. Mientras que, dentro de los no consumidores de hojas, un 26,3% adquiere raíces sin hojas, el 60,8% descarta las hojas en el hogar y el 12,9% restante adquiere la planta en la condición que esté disponible, descartando las hojas de ser necesario (Fernández et al., 2017b). Estos datos ponen en evidencia el bajo aprovechamiento integral de este recurso. Por esta razón, la revalorización de este subproducto permitiría aumentar el rendimiento del cultivo, maximizar la utilización de la biomasa, amortizar los costos asociados a su producción

y reducir el impacto ambiental inducido por su descarte, mejorando la sustentabilidad de la cadena agroalimentaria.

Considerando lo expuesto anteriormente, el presente trabajo tiene por objetivo realizar una revisión bibliográfica sobre algunas de las estrategias más recientes de revalorización de hojas de remolacha destinadas al consumo humano.

2. Metodología

El presente trabajo consistió en una revisión de la bibliografía disponible sobre estrategias recientes de aprovechamiento integral de subproductos hortícolas, específicamente hojas de remolacha, tomando como referencia diferentes fuentes digitales de información, nacionales e internacionales.

3. Potencial nutricional y bioactivo de hojas de remolacha

Con la intención de incrementar la utilización de la biomasa desaprovechada como resultado del procesamiento de la planta de remolacha, nuestro grupo de investigación ha estado trabajando activamente en estrategias de revalorización de las hojas (Bengardino *et al.*, 2019; Denoya *et al.*, 2017; Fernández *et al.*, 2017a; 2017b; 2017c; 2018a; 2018b; 2018c; 2019a; 2019b; 2020a; 2020b, Nutter *et al.*, 2020).

El primer paso en la cadena de eventos destinados a revalorizar un subproducto a través del desarrollo de nuevos alimentos consiste en evaluar su valor nutricional, microbiológico y sensorial. Con tal objetivo, Fernández, *et al* (2017a) han llevado a cabo un estudio integral acerca de la composición química de hojas de remolacha, en el cual fueron analizados el contenido de macro-, micronutrientes, compuestos antinutricionales y compuestos bioactivos presentes en esta matriz.

3.1. Macro- y micronutrientes:

Las hojas de remolacha constituyen una fuente rica en nutrientes, destacándose por su alto contenido de proteínas (24,7 g.kg⁻¹ peso fresco, PF), grasas totales (7,9 g.kg⁻¹ PF), fibras (29,3 g.kg⁻¹ PF) y hierro (25,4 mg.kg⁻¹ PF), del orden o incluso mayor que el reportado para otras hojas subutilizadas (Goyeneche et al., 2015; Gupta et al., 2005; Leite et al., 2011). En comparación con hojas de plantas de rabanito (Raphanus sativus), las hojas de remolacha duplicaron y quintuplicaron el contenido de lípidos y fibras, respectivamente (Goyeneche et al., 2015). Biondo, et al (2014) también destacaron a las hojas de remolacha por su alto contenido proteico, lipídico y férrico e informaron que, si bien la concentración de estos nutrientes puede variar de acuerdo con el estado de maduración de la planta (entre 60 y 100 días desde su siembra), el contenido máximo de nutrientes fue registrado a los 60 días de maduración. En particular, la concentración de proteínas en hojas de remolacha deshidratadas es de aproximadamente 300 g.kg⁻¹ peso seco (PS), razón por la cual estos autores recomiendan su incorporación como suplemento, con el fin de incrementar el contenido de proteínas en la dieta de aquellas personas que tienen acceso limitado a la proteína animal. Adicionalmente, el consumo de 70 g de hojas de remolacha deshidratadas es suficiente para cubrir los requerimientos diarios de hierro y cobre (Biondo et al., 2014). Por otra parte, las hojas de remolacha se caracterizan por presentar una composición lipídica variada, conformada por ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinstaruados (AGP). Entre los AGS se destacan los ácidos pentadecílico (15:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0); mientras que, dentro de AGM se encuentran los ácidos palmitoleico (16:1 n-7), oleico (18:1 n-9) y vaccénico (18:1 n-7) (Biondo *et al.*, 2014). Finalmente, los AGP son los ácidos grasos predominantes en hojas de remolacha, presentándose en una concentración de 48,4 mg.g⁻¹ PS, valor que quintuplica la concentración de AGS, y sus principales representantes pertenecen a las familias ω-6 (ácido linoleico, 18:2 n-6) y ω-3 (ácido alfa linoleico, 18:3 n-3). Este último es el ácido graso que predomina entre los 60 y 100 días de desarrollo del vegetal (Biondo *et al.*, 2014), cuya concentración (40,11 mg.g⁻¹ PF) excede ampliamente a la reportada para otros subproductos hortícolas, como hojas de zanahoria (*Daucus carota*) (Leite *et al.*, 2011), y convierte a las hojas de remolacha una excelente fuente de ácidos grasos esenciales.

Por otra parte, la presencia de micronutrientes (hierro, zinc, calcio, manganeso, entre otros) en concentraciones traza resulta esencial para el correcto funcionamiento del cuerpo humano (Gupta *et al.*, 2005), cuyos requerimientos diarios en adultos varían entre 0,15 y 500,00 mg según el mineral considerado (FAO, 2002). En particular, los vegetales de hojas verdes representan una fuente importante de minerales; sin embargo, su biodisponibilidad puede verse negativamente afectada por la presencia de agentes antinutricionales (Amalraj & Pius, 2015). De acuerdo con un estudio llevado a cabo por Fernández, *et al* (2017a), las concentraciones de hierro (25,4 mg.kg⁻¹ PF), calcio (525,0 mg.kg⁻¹ PF) y zinc (4,1 mg.kg⁻¹ PF) presentes en hojas de remolacha fueron semejantes a las reportadas para diversas hojas verdes no convencionales, como *R. sativus, Trianthema portulacastrum* y *Polygala erioptera* (Goyeneche *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2005). En este sentido, resulta importante destacar que, por tratarse de un alimento subutilizado, las hojas de remolacha comprenden una fuente económicamente accesible de minerales esenciales.

3.2. Compuestos antinutricionales:

En esta matriz subutilizada, Fernández, *et al* (2017a) prestaron especial atención a la presencia de agentes antinutricionales, uno de los problemas principales asociados a la incorporación de micronutrientes desde fuentes vegetales. Los compuestos antinutricionales, como ácido oxálico, ácido fítico y taninos, presentan esta denominación por su capacidad para formar complejos insolubles con diferentes minerales (calcio, hierro, magnesio, zinc), reduciendo o limitando la biodisponibilidad de estos micronutrientes (Gupta *et al.*, 2005).

De acuerdo con los resultados presentados por Fernández, et al (2017a), el contenido de oxalatos (8328,6 mg.kg⁻¹) presente en hojas de remolacha es comparable al exhibido por hojas verdes no convencionales, como T. portulacastrum y Celosia argentea (Gupta et al., 2005), y para ciertas hojas de consumo habitual en la India, como Allmania nodiflora, Centella asiatica y Pisonia alba (Amalraj & Pius, 2015); mientras que, la concentración de fitatos (34,3 mg.kg-¹ PF) y taninos (84,6 mg.kg⁻¹ PF) se encuentra muy por debajo de los valores informados para otros vegetales de hoia (Amalrai & Pius, 2015; Gupta et al., 2005). En particular, 12 de las 13 especies vegetales no convencionales estudiadas por Gupta, et al (2005) presentan concentraciones de taninos entre 7 y 150 veces superiores a las exhibidas por hojas de remolacha. Asimismo, los efectos antinutricionales ejercidos por los fitatos son evaluados a partir de las relaciones molares entre éstos y los correspondientes micronutrientes (Ferguson et al., 1988). En hojas de remolacha, las relaciones molares entre fitatos y minerales como calcio, zinc y hierro se encuentran muy por debajo de los valores umbral a partir de los cuales la biodisponibilidad de estos micronutrientes puede verse comprometida (Fernández et al., 2017a). Así, la concentración de compuestos antinutricionales presentes en esta matriz no ejercería un impacto negativo sobre su valor nutricional.

3.3. Fitoquímicos:

Las frutas y vegetales representan un reservorio importante y diverso de compuestos bioactivos, cuya función en los tejidos sirve a las plantas para responder frente a distintos tipos de estrés

(Biondo *et al.*, 2014). Estos compuestos son conocidos por su actividad antioxidante, capacidad que les permite inhibir o retardar procesos oxidativos a través de la neutralización de especies radicales libres (López-Alarcón & Denicola, 2013). Tradicionalmente, compuestos sintéticos como butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) han sido utilizados como agentes antioxidantes en la elaboración de alimentos, con el objetivo de retardar procesos de degradación oxidativa. Sin embargo, diversas cuestiones asociadas a su seguridad alimentaria han conducido a los científicos y tecnólogos alimentarios a la búsqueda de fuentes naturales de compuestos antioxidantes (Balasundram *et al.*, 2006).

Evaluando el potencial bioactivo de hojas de remolacha, Fernández, *et al* (2017a) han encontrado que esta matriz exhibe una actividad antioxidante tan elevada (70,91% *RSC*, capacidad secuestrante de radicales, por sus siglas en inglés) que las posiciona entre los vegetales de hoja con capacidad antirradicalaria más altos. Inclusive, su capacidad antioxidante duplica los valores informados en la bibliografía para otras partes de esta planta, como las raíces (Tutunchi *et al.*, 2019). A continuación, se detallan los fitoquímicos más importantes encontrados en hojas de remolacha, muchos de los cuales se correlacionan con una elevada actividad antioxidante.

3.3.1. Compuestos fenólicos:

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios cuya estructura química consiste en un anillo aromático acompañado de uno o más grupos hidroxilo, que confiere a estos compuestos actividad antioxidante (Płatosz *et al.*, 2020). La inclusión en la dieta de alimentos ricos en polifenoles ha sido asociada con numerosos beneficios sobre la salud humana, ya que estos compuestos son capaces de inhibir reacciones de oxidación de proteínas, lípidos y otros sustratos oxidables, retardando el envejecimiento celular (Leite *et al.*, 2011). Asimismo, su consumo a largo plazo ha sido correlacionado con una baja incidencia de enfermedades neurodegenerativas, cardio- y cerebrovasculares, cáncer y diabetes (Pandey & Rizvi, 2009).

Extracciones sólido-líquido con etanol (1:3 p/v, 2 °C, 1 h) realizadas en hojas de remolacha permitieron a Fernández, *et al* (2017a) obtener concentraciones de polifenoles de 305,80 μg equivalentes de ácido gálico (EAG).g⁻¹ PS, siendo estos valores superiores a los reportados para tres variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*, *longifolia* y *crispa*), y para una variedad de escarola (*Cichorium endivia* var. *crispa*) (Llorach *et al.*, 2008). No obstante, Biondo, *et al* (2014), trabajando bajo diferentes condiciones de extracción, obtuvieron un contenido de compuestos fenólicos hasta 50 veces superior al valor informado por Fernández, *et al* (2017a). Estos autores llevaron a cabo una maceración a temperatura ambiente por 5 h, utilizando metanol como solvente extractor en una relación sólido-líquido de 1:10 (p/v). Por esta razón, resulta importante destacar que, además de su concentración en la materia prima, el método de extracción y la polaridad de solvente utilizado afectan notablemente al rendimiento en la extracción de los compuestos fenólicos (Kujala *et al.*, 2001). En la sección 4.3. del presente artículo se profundiza sobre estrategias que permiten maximizar la eficiencia en la extracción de compuestos bioactivos a partir de hojas de remolacha.

Por otra parte, numerosos factores bióticos y abióticos son capaces afectar la biosíntesis de compuestos fenólicos, tales como el cultivar, la etapa de maduración, la estación del año, la exposición frente a patógenos, entre otros (Bruni & Sacchetti, 2009). De hecho, con respecto a la etapa de maduración de la planta, Biondo, *et al* (2014) han reportado la mayor concentración de estos compuestos a los 100 días desde su siembra. Asimismo, teniendo en cuenta que la estructura química de los polifenoles está estrechamente asociada a su capacidad antioxidante, la identificación de estos compuestos en hojas de remolacha resulta fundamental para conocer el potencial antioxidante que pueden presentar extractos provenientes de esta matriz. Un análisis cromatográfico por medio de cromatografía líquida de alta resolución (*HPLC*, *High*

performance liquid chromatography) llevado a cabo por Fernández, et al (2017a) ha permitido identificar al flavonoide rutina (9,700 μg.g⁻¹ PS) como el compuesto fenólico mayoritario en hojas de remolacha, representando el 61% de los compuestos fenólicos totales, seguido por quercetina (0,012 μg.g⁻¹ PS) y kaempferol (0,001 μg.g⁻¹ PS) en concentraciones significativamente menores. En esta misma matriz, otros autores reportaron la presencia de un único ácido fenólico, ácido ferúlico hexósido, y 11 flavonoides *C*-glucósidos, vitexina, isovitexina, pentósido de (iso) vitexina, apigenina-*C*-pentósido-*C*-hexósido, acetil (iso) vitexina, acacetina-*C*-hexósido, acetil (iso) vitexina (Abd El-Ghffar et al., 2019). Las variaciones en la composición polifenólica reportada en la literatura puede estar asociada a los factores bióticos y abióticos anteriormente mencionados.

3.3.2. Pigmentos:

Dentro de los compuestos colectivamente conocidos como fitoquímicos se encuentra una amplia variedad de pigmentos vegetales, entre ellos se destacan los carotenoides, las clorofilas, las antocianinas y las betalaínas. Estos compuestos naturales, tradicionalmente estudiados por sus aplicaciones tecnológicas como colorantes, están siendo investigados por sus propiedades nutricionales, bioactivas y efectos sobre la salud (Alagoz *et al.*, 2018; Abd El-Ghffar *et al.*, 2019; Ferruzzi y Blakeslee, 2007; Miller *et al.*, 2020; Pires-Goncalvez et al., 2013; Slavov *et al.*, 2013).

3.3.2.1. Carotenoides:

Los carotenoides son el grupo de pigmentos más extensamente distribuido en la naturaleza, responsable de las coloraciones roja, naranja y amarilla de numerosas frutas y vegetales. Se trata de tetraterpenoides cuya cadena principal consiste en 40 átomos de carbono compuesta por ocho unidades isopreno, conteniendo entre 3 y 15 dobles enlaces conjugados (Villaño *et al.*, 2016). Al ser ingeridos, en humanos poseen diversas funciones biológicas al parecer asociadas a la salud, como reducción de la incidencia de obesidad, disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y aumento de la respuesta inmune (Alagoz *et al.*, 2018; Miller *et al.*, 2020).

Si bien es conocido que los vegetales de hoja son una de las fuentes más importantes de compuestos carotenoides (Villaño *et al.*, 2016), ha sido demostrado que la concentración de estos compuestos en hojas de remolacha (2,48 mg.g⁻¹ PS) (Fernández *et al.*, 2017a) es cuatro veces más alto que el valor reportado para hojas de espinaca (*Spinacia oleracea*) (Sánchez-Vega *et al.*, 2014) y entre 4 y 24 veces superior al informado por Gupta, *et al* (2005) para un número importante de especies de hojas verdes subutilizadas de India, haciendo de las hojas de remolacha una fuente especialmente importante de estos pigmentos esenciales.

3.3.2.2. Clorofilas:

Las clorofilas y sus derivados son pigmentos fotosintéticos ampliamente distribuidos en las especies vegetales, las cuales otorgan a las hojas su color verde característico. De hecho, la coloración verde intensa de las hojas es uno de los atributos más atractivos para los consumidores (Queiroz-Zepka *et al.*, 2019). Estructuralmente, la clorofila es un anillo tetrapirrolico (porfirina) sustituido con un átomo de magnesio central, cuya función es absorber luz, y una cadena hidrófoba de fitol que mantiene a la clorofila integrada a la membrana del cloroplasto, en donde se localiza este pigmento (Ferruzzi & Blakeslee, 2007). Extractos vegetales ricos en clorofilas han presentado actividades biológicas compatibles con la prevención del cáncer, incluyendo actividad antioxidante, antimutagénica y antiinflamatoria, modulación del metabolismo xenobiótico e inducción de apoptosis (Ferruzzi y Blakeslee, 2007).

Teniendo en cuenta que se trata de un recurso subutilizado, los resultados obtenidos por Fernández, *et al* (2017a) en relación al contenido de clorofilas totales en hojas de remolacha fueron verdaderamente prometedores (6,96 mg.g⁻¹ PS), siendo apreciablemente superiores a los obtenidos para ciertos vegetales de hoja e inflorescencias de consumo cotidiano, como repollitos de Bruselas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*, 0,07 mg.g⁻¹ PS) y brócoli (*B. oleracea* var. *italica*, 0,08 mg.g⁻¹ PS) (Ferruzzi y Blakeslee, 2007), así como también para hojas subutilizadas de rabanito (0,52 mg.g⁻¹ PS) (Goyeneche *et al.*, 2015). Sin embargo, vegetales como espinacas (17,85 mg.g⁻¹ PS) y kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*, 37,40 mg.g⁻¹ PS) duplicaron y quintuplicaron el contenido de clorofilas reportado para hojas de remolacha (Ferruzzi y Blakeslee, 2007). Por otra parte, el cociente de 2,5 entre los contenidos de clorofila-*a* (4,98 mg.g⁻¹ PS) y clorofila-*b* (2,00 mg.g⁻¹ PS) en hojas de remolacha es comparable con la relación 3 a 1 usualmente presentada por la mayoría de los vegetales ricos en este pigmento (Ferruzzi y Blakeslee, 2007).

3.3.2.3. Betalaínas:

Las betalaínas son una clase de metabolitos secundarios sintetizados por la mayoría de las especies del orden Caryophyllales, a partir del aminoácido tirosina (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004), y son acumulados en las vacuolas de las células vegetales (Otálora *et al.*, 2020). Estos cromoalcaloides nitrogenados solubles en agua se subclasifican en dos grupos, betacianinas (pigmento rojo-violáceo) y betaxantinas (pigmento amarillo-anaranjado), resultantes de las reacciones de condensación entre una molécula de ácido betalámico y una molécula de ciclo-Dopa (ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina) o compuestos con grupos amino en su estructura (aminoácidos, aminas y derivados), respectivamente. Adicionalmente, las betacianinas suelen experimentar glicolisación o acilación, dando lugar a una gran variedad de estructuras (Rodriguez-Amaya *et al.*, 2016).

A diferencia de las antocianinas, con las cuales son mutuamente excluyentes, las betalaínas no se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Sin embargo, ambos pigmentos presentan patrones de distribución similares, sugiriendo funciones análogas en las plantas, principalmente asociados a procesos de polinización (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004). En las hojas de remolacha, las betacianinas neutralizan a las especies reactivas de oxígeno, previamente sintetizadas por la planta como mecanismo de respuesta a daños mecánicos e inducidos por patógenos (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2004). En la salud humana, se ha demostrado que las betalaínas impiden la proliferación de varias líneas de células cancerígenas (Slavov *et al.*, 2013), ayudan a reducir el contenido de glucosa y lípidos en sangre y poseen funciones hepatoprotectoras (Abd El-Ghffar *et al.*, 2019).

La raíz de remolacha es la porción de la planta que presenta el contenido más elevado de betalaínas, siendo siempre las betacianinas el pigmento predominante (5,00 a 30,00 mg.g⁻¹ PS); mientras que, el contenido de betaxantinas en la raíz varía entre 2,00 y 20,00 mg.g⁻¹ PS, de acuerdo al cultivar (Azeredo, 2009).

Con respecto a su concentración en hojas de remolacha, estudios han señalado que la relación betacianinas/betaxantinas es menor a la unidad, siendo el contenido de betaxantinas (2,43 mg.g⁻¹ PS) superior al de betacianinas (1,56 mg.g⁻¹ PS) (Fernández *et al.*, 2017). La distribución limitada de betalaínas en tejidos vegetativos de las plantas imposibilita la comparación con hojas de otras hortalizas, sin embargo, es posible contrastar estos valores con otros subproductos provenientes de esta especie. En este contexto, Vulic, *et al* (2012) analizaron el contenido de betalaínas en pulpa de raíz para diferentes variedades de remolacha (Cardeal-F1, Egipcia, Bicor, Kestrel) e informaron concentraciones de betaxantinas (0,29 a 1,76 mg.g⁻¹ PS) y betacianinas (0,46 a 1,99 mg.g⁻¹ PS) del orden o incluso menores a las encontradas en las hojas. En tanto que, Otálora, *et al* (2020) encontraron concentraciones aún menores de betalaínas en subproductos obtenidos de la operación de cortado de raíces durante su

procesamiento industrial. En este sentido, los resultados obtenidos por Fernández, *et al.* (2017a) posicionan a las hojas de remolacha como una de las fuentes subutilizadas más importantes de pigmentos betalaínicos, permitiendo una mejor y más rentable utilización de este subproducto.

3.4. Microflora nativa:

Las hortalizas poseen una micloflora autóctona que subsiste en la superficie del vegetal en pequeñas gotas de agua exudadada, pudiendo representar una fuente de microorganismos deteriorantes durante la postcosecha. Adicionalmente, el vegetal puede tomar contacto con microorganismos provenientes del suelo, el agua, los animales y las superficies de equipos utilizados durante la cosecha, el almacenamiento y la distribución (Carrillo & Bejarano, 2007). Por este motivo, es relevante conocer la calidad microbiológica de las hojas de remolacha, subproducto con potencial aplicación en la industria alimentaria. En este contexto, Fernández, et al (2017a) evaluaron los principales grupos microbianos (bacterias aerobias mesófilas, bacterias psicrótrofas, bacterias ácido lácticas, coliformes totales y mohos y levaduras) potencialmente presentes en hojas de remolacha recién cosechadas. Los recuentos de bacterias aeróbias mesófilas (5,15 logaritmo de unidades formadoras de colonia.g⁻¹, log UFC.g⁻¹), bacterias psicrótrofas (5,63 log UFC.g⁻¹), bacterias ácido lácticas (2,86 log UFC.g⁻¹), coliformes totales (3,76 log UFC.g⁻¹) y mohos y levaduras (4,63 log UFC.g⁻¹) obtenidos por estos autores se encontraron dentro del rango normalmente reportado para hortalizas frescas (4,00-9,00 log UFC.g⁻¹) (Carrillo & Bejarano, 2007), como lechuga (L. sativa L. var. lores, inybacea, longifolia y capitata), col (Brassica oleracea L.) y rúcula (Eruca sativa L.) (Ponce et al., 2008; Maffei et al., 2013). Asimismo, Fernández, et al (2017a) reportaron que algunos grupos microbianos de interés sanitario, como los coliformes totales, estuvieron incluso por debajo de los recuentos obtenidos para hojas de rabanito subutilizadas (Goyeneche et al., 2015). De esta manera, en función a los resultados encontrados por estos autores y en tanto se cumplan las buenas prácticas de cultivo y manipulación, la carga microbiana presente en hojas de remolacha no compromete su aptitud para ser incorporadas como ingredientes en el desarrollo de nuevos alimentos mínimamente procesados.

3.5. Características sensoriales:

Las características sensoriales de hojas de remolacha pueden resultar útiles para el desarrollo de diferentes productos en las industrias alimentaria y cosmética. La presencia de betalaínas otorga a esta matriz una apariencia poco habitual en comparación con otras verduras de hoja, diferenciándose dos áreas principales, una de ellas asociada a la nervadura central v sus enervaciones menores, color rojo-púrpura y, por otra parte, se encuentra la superficie de la hoja, de coloración verde. A pesar de ser poco convencionales, estos atributos fueron considerados atractivos por miembros de un panel evaluador, otorgando a este subproducto un puntaje por encima del límite de aceptación (Fernández et al., 2017a). En particular, las hojas de remolacha presentan una amplia variedad de compuestos volátiles que incluye a alcoholes, alcanos, aldehídos y cetonas. En esta matriz, el compuesto mayoritario es 2-etil-1-hexanol, seguido en orden decreciente de concentraciones por dodecano, 4,6-dimetil-undecano, 1,2,4-trimetilbenceno y 3,6-dimetil-undecano. Estos compuestos se caracterizan por otorgar atributos que son deseables para el desarrollo de productos en las industrias cosmética, alimentaria y farmacéutica (Lasta et al., 2019). Adicionalmente, la presencia de ciertos aminoácidos, como glutamina y triptófano, y derivados de purina (guanosina y metilbutenil isoguanina) pueden contribuir con el carácter sensorial de este vegetal (Hegazi et al., 2020).

4. Estrategias de revalorización de hojas de remolacha

Existen diversas estrategias de revalorización de subproductos hortícolas que permiten generar un beneficio no sólo medioambiental, sino también económico. Ciertas partes de las plantas, como hojas y tallos, presentan valores de pH cercanos a la neutralidad, una elevada actividad de agua (aw) y son una fuente importante de nutrientes, características que hace propensos a estos subproductos a la degradación bacteriana (Schieber et al., 2001). Por este motivo, las alternativas de valorización habitualmente utilizadas incluyen su uso como alimento para el ganado o como fertilizantes. Más recientemente, se ha explorado el potencial de estos subproductos como enmienda orgánica de suelos para remediar la contaminación por metales pesados y por ácido sulfúrico, ambos derivados de la industria minera, lo cual representa un riesgo importante para la salud humana, la seguridad alimentaria y la integridad del ecosistema (Clemente et al., 2015). En particular, la remolacha azucarera (B. vulgaris subsp. vulgaris var. altissima) es ampliamente cultivada en Estados Unidos, Rusia y diferentes países que forman parte de la Unión Europea, con una producción mundial total de 301 millones de toneladas anuales (FAOSTAT, 2017). Los subproductos derivados de la producción industrial de azúcar de remolacha comprenden hojas, semillas, pulpa y residuos de la carbonatación cálcica generados en la etapa de purificación del jugo. Las hojas y semillas son utilizadas como fertilizantes, mientras que la pulpa, debido a su alto valor nutritivo, es utilizada como alimento para animales (Clemente et al., 2015). Por otro lado, los residuos con alto contenido de carbonato de calcio, hidróxidos y materia orgánica son utilizados para la reestablecer el pH de suelos acidificados, reducir la movilidad y biodisponibilidad de los metales pesados (Gómez-Paccard et al., 2013) e incluso incrementar la actividad microbiana de los suelos (Burgos et al., 2010). No obstante, mediante estas estrategias de revalorización no se aprovecha completamente el alto valor nutritivo de las hojas de remolacha. Por este motivo, resulta de gran interés la búsqueda de nuevas soluciones que permitan explotar su máximo potencial. En este sentido, el desarrollo de nuevos alimentos y la extracción de compuestos bioactivos, para su posterior utilización en la fortificación de alimentos, podrían considerarse estrategias promisorias de revalorización.

4.1. Desarrollo de un alimento mínimamente procesado:

En la actualidad, los consumidores están siendo cada vez más conscientes de la calidad de su alimentación, razón por la cual han incrementado el consumo de frutas y hortalizas en su dieta. Adicionalmente, los cambios en los estilos de vida han reducido los tiempos destinados a la preparación de los alimentos, haciendo que los consumidores prefieran adquirir estos productos listos para consumir, aunque sin comprometer aspectos ligados a un elevado valor nutricional (Gupta *et al.*, 2012).

En respuesta a estas exigencias hacia alimentos más saludables, mínimamente procesados (IV gama) y libres de aditivos sintéticos, así como también a las demandas del sector agroindustrial, orientadas a solucionar los problemas económicos y ambientales vinculados a la gran cantidad de subproductos desaprovechados por esta industria, nuestro grupo de investigación ha estado trabajando desde hace algunos años en el desarrollo de un alimento mínimamente procesado a partir de hojas de remolacha frescas cortadas y envasadas listas para consumir (Fernández *et al.*, 2017a; 2017b; 2017c; 2018a; 2018b; 2018c; 2020b).

Al abordar esta propuesta resulta importante tener en cuenta que el procesamiento asociado a la producción de hortalizas IV gama, como desinfección, secado, trozado y empaquetado, acelera el deterioro de estos productos, ya que se incrementan las tasas de respiración, transpiración, actividad enzimática y proliferación bacteriana (Gupta *et al.*, 2012). En consecuencia, estos productos poseen tiempos de vida útil relativamente cortos. Por esta razón, surge la necesidad de desarrollar procesos que permitan preservar las características

fisicoquímicas y organolépticas de este subproducto y que garanticen su seguridad alimentaria. Dentro de las estrategias de conservación que han sido propuestas para este alimento mímimante procesado (hojas de remolacha seleccionadas, desinfectadas, cortadas y envasadas), se destacó el uso de antimicrobianos naturales (nisina, natamicina, extracto de té verde y sus combinaciones), incorporados en el producto antes del sellado del envase, para controlar el crecimiento de la microflora nativa y prevenir eventuales contaminaciones con patógenos de interés en este tipo de producto (Fernández et al., 2017c; 2018a; 2018b). Estos autores demostraron que el tratamiento de hojas de remolacha con extracto de té verde (5%, v/v) resulta efectivo contra la proliferación de bacterias aerobias mesófilas, enterobacterias, Listeria innocua ATCC33090 (subrogante de L. monocytogenes) y Escherichia coli ATCC8739 (subrogante de E. coli O157:H7), mientras que la combinación de extracto de té verde (2,5 y 5%, v/v) con natamicina es particularmente efectiva contra mohos y levaduras, manteniendo los recuentos por debajo de los valores control durante las 96 h de almacenamiento (Fernández et al., 2017c). En tanto que, el tratamiento con nisina es notablemente efectivo frente a Listeria spp. (Fernández et al., 2018a). Adicionalmente, Fernández, et al (2020b) utilizaron la tecnología de envasado en atmósferas modificadas (EAM) y la combinación de esta tecnología con el uso de antimicrobianos naturales (Fernández et al., 2018b) con la intención de prolongar la vida útil de este producto. Los resultados obtenidos por estos autores mostraron un efecto sinérgico entre la combinación de extracto de té verde (2,5%, v/v) y nisina (500 UI/g) con EAM (5% O₂ - 10% CO₂ - 85% N₂) sobre el control de la microflora nativa y de especies subrogantes de los patógenos L. monocytogenes y E. coli O157:H7, extendiendo la vida útil de este producto hasta 14 días, inclusive; a la vez que observaron un incremento en el contenido de compuestos fenólicos y en la capacidad antioxidante de este alimento luego de la incorporación de extracto de té verde. La combinación de ambas tecnologías resulta una estrategia prometedora para lograr de manera simultánea calidad y seguridad alimentaria de hojas de remolacha mínimamente procesadas.

4.2. <u>Incorporación de subproductos a batidos vegetales mixtos:</u>

Estudios recientes han señalado que la mayor parte de la población no incorpora a su dieta la dosis diaria recomendada de frutas y vegetales (Livingstone *et al.*, 2020). La inclusión de bebidas mixtas a base de frutas y hortalizas constituye una buena práctica para cubrir estos requisitos diarios, incrementando, así, la ingesta de nutrientes y compuestos bioactivos responsables de efectos benéficos sobre la salud. Además, en los últimos años se ha incrementado el interés por reemplazar bebidas azucaradas carentes de nutrientes, cuyo consumo está asociado a la obesidad y diabetes infantil (Twarog *et al.*, 2020; O'Neill *et al.*, 2020). En este sentido, los batidos a base de frutas y vegetales son candidatos ideales para reemplazar a estas bebidas, permitiendo generar un cambio positivo en los hábitos alimentarios de las personas.

Atendiendo a estas tendencias, Denoya, et al (2017) desarrollaron una nueva propuesta de revalorización de hojas de remolacha mediante su incorporación en un batido vegetal conteniendo frutas y hortalizas. La primera etapa de este trabajo consistió en la formulación del batido, empleando tanto hojas como tallos de remolacha, junto con otros ingredientes, como jugo de naranja, zanahoria y manzana. Estas formulaciones fueron evaluadas mediante un panel de consumidores en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, sede Castelar), quienes calificaron de manera positiva a características como el color, apariencia, sabor, estabilidad de la espuma y separación de fases. Una vez ajustada y seleccionada la formulación (jugo de naranja (59%), manzana (15%), zanahoria (15%), hojas (6%) y tallos (5%) de remolacha), estos autores determinaron su estabilidad evaluando parámetros de calidad microbiológica (bacterias aerobias mesófilas y psicrótrofas, mohos y levaduras), nutricional (ácido ascórbico, polifenoles, carotenoides y clorofila), fisiológica (actividad de enzimas

polifenoloxidasa, *PPO*, y peroxidasa, *POD*), parámetros fisicoquímicos (color, textura, pH, humedad, sólidos solubles) y sensoriales durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración comercial (Denoya *et al.*, 2017).

Por otra parte, teniendo en cuenta que este tipo de bebidas son propensas a la degradación microbiana y enzimática y que los tratamientos convencionales de conservación conducen a pérdidas de nutrientes y sabores, Fernández, *et al* (2018c) orientaron sus estudios hacia el desarrollo de tratamientos no térmicos que permitan extender la vida útil del producto evitando alteraciones en sus características nutricionales y organolépticas. En este sentido, el tratamiento con altas presiones hidrostáticas (APH) constituye una tecnología de conservación alternativa que cumple estos requisitos y consiste en aplicar altas presiones hidrostáticas (100-1000 MPa) por un corto periodo de tiempo (de segundos a pocos minutos), a temperatura ambiente o de refrigeración, sobre alimentos envasados (Fernández *et al.*, 2018c).

Empleando esta técnica para la preservación de batidos mixtos de frutas y vegetales, estos autores optimizaron de manera simultánea las variables presión y tiempo de tratamiento, obteniendo condiciones óptimas de 627,5 MPa y 6,4 min, respectivamente, mediante las cuales lograron reducciones del 85, 45 y 10% en las actividades de las enzimas pectinmetilesterasa (*PME*), *POD* y *PPO*, respectivamente, responsables del pardeamiento de productos vegetales y reducción en el contenido de compuestos fenólicos. Además, los tratamientos con APH no introdujeron cambios en los valores de pH, sólidos solubles, textura y contenido de compuestos fenólicos, incrementaron en un 75% la capacidad antioxidante y mejoraron la calidad microbiológica y el color del batido (Fernández *et al.*, 2018c).

Una vez obtenidas las condiciones de tratamiento con APH que permitieron reducir sustancialmente los factores causantes de deterioro (630,0 MPa/6,0 min), Fernández, *et al* (2019a) evaluaron la estabilidad fisicoquímica, microbiológica y antioxidante del batido tratado con APH y almacenado a temperatura ambiente por 26 días. Los resultados obtenidos por estos autores fueron prometedores, posibilitando la conservación de la calidad fisicoquímica y microbiológica del batido vegetal por 26 días con la ventaja que ofrece un almacenamiento a temperatura ambiente. En este sentido, el batido no sufrió alteraciones en los parámetros fisicoquímicos evaluados (sólidos disueltos, firmeza, consistencia) con respecto a la bebida recién preparada, mientras que, los recuentos de grupos microbianos de interés (bacterias aeróbias mesófilas, enterobacterias, bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras) se mantuvieron por debajo del límite de detección (<1 log UFC/g). Sin embargo, entre cuatro y siete días de almacenamiento, la degradación de betacianinas afectó apreciablemente el color rojizo de esta bebida, aunque esta alteración, de ninguna manera afecta la seguridad alimentaria del producto (Fernández *et al.*, 2019a).

Por otra parte, su alto contenido de azúcares, nutrientes y aw hacen a estos batidos extremadamente susceptibles a la proliferación microbiana, especialmente a aquellas especies adaptadas a ambientes de elevada acidez, como mohos y levaduras y bacterias ácido lácticas. Asimismo, ha sido documentada la supervivencia de ciertos patógenos provenientes de las materias primas en alimentos a base de frutas y hortalizas durante largos periodos de tiempo en condiciones de refrigeración (Mukhopadhyay *et al.*, 2016). Atendiendo estas cuestiones, Fernández, *et al* (2019b) evaluaron la efectividad del tratamiento con APH (630,0 MPa/6,0 min) sobre la estabilidad del batido en condiciones de refrigeración y contra la proliferación especies subrogantes de los patógenos *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 (Fernández *et al.*, 2019b). Del mismo modo que para batidos almacenados a temperatura ambiente, en los batidos almacenados bajo condiciones de refrigeración (previamente tratados con APH), la microflora nativa se mantuvo por debajo del límite de detección y las actividades enzimáticas (*POD*, *PPO* y *PME*) permanecieron por debajo de los valores observados para batidos control. Además, los valores de pH y sólidos solubles no se vieron afectados por el tratamiento ni por el tiempo de almacenamiento. Por otra parte, el almacenamiento en condiciones de refrigeración permitió la

retención del color rojizo de este producto, el cual había sido afectado durante el almacenamiento a temperatura ambiente (Fernández *et al.*, 2019a). Uno de los resultados más destacados del trabajo llevado a cabo por Fernández, *et al* (2019b) es la capacidad de las APH para controlar la proliferación de subrogantes de patógenos en batidos con una contaminación inicial de 6 log UFC.g⁻¹. Luego del tratamiento, los recuentos de *L. innocua* y *E. coli* permanecieron por debajo del límite de detección durante 28 días a 5 °C. Si bien en los controles la acidez de esta matriz (pH=3,7) fue suficiente para inhibir la proliferación de *L. innocua*, *E. coli* exhibió ácido-tolerancia durante los primeros 5 días de almacenamiento. Así, el tratamiento con APH, en combinación con el almacenamiento a bajas temperaturas, permitió garantizar la seguridad alimentaria del producto ante una potencial contaminación con patógenos provenientes de la materia prima. De esta manera, APH resulta una excelente estrategia de conservación, asegurando estabilidad microbiana, nutricional y fisicoquímica de un batido vegetal por 26 días a temperatura ambiente y conservando, además, su color si el almacenamiento se produce a 5 °C (Fernández *et al.*, 2019b).

4.3. Recuperación de compuestos con actividad biológica:

En la actualidad, la vasta oferta de tecnologías existentes permite explotar en profundidad el potencial de los subproductos de la industria agroalimentaria. Estas matrices subutilizadas son consideradas fuentes económicamente accesibles de compuestos bioactivos, los cuales pueden ser recuperados y reciclados dentro de la cadena alimentaria como aditivos funcionales para el desarrollo de diferentes alimentos, incrementando, en consecuencia, el valor de estos subproductos (Galanakis, 2012).

Las técnicas tradicionales de extracción sólido-líquido, maceración y Soxhlet, han sido ampliamente utilizadas a nivel industrial para la recuperación de fitoquímicos desde matrices vegetales, combinando el uso de solventes orgánicos, principalmente metanol y hexano, con elevadas temperaturas y agitación constante (Barba *et al.*, 2016; Wang & Weller, 2006). Sin embargo, el uso de este tipo de solventes es cada vez más cuestionado debido al impacto ambiental asociado a su manipulación y a la imposibilidad de obtener extractos de grado alimenticio. En consecuencia, se ha incrementado el interés hacia el desarrollo de procesos de extracción más seguros y amigables con el ambiente, utilizando agua y mezclas etanólicas generalmente reconocidas como seguras (*GRAS*), para facilitar la extracción de compuestos bioactivos (Chemat *et al.*, 2015).

Por otra parte, si bien el rendimiento en la extracción depende de la concentración de fitoquímicos en la materia prima, éste puede incrementarse notablemente seleccionando cuidadosamente las condiciones óptimas para cada variable involucrada en el proceso (Espada-Bellido *et al.*, 2017). En este contexto, una vez explorado el potencial bioactivo de hojas de remolacha (Fernández *et al.*, 2017a), Bengardino, *et al* (2019) han avanzado en la optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos y betalaínas presentes en esta matriz a través de un proceso sólido-líquido, teniendo como premisa la importancia de desarrollar procesos de extracción limpios, seguros y de bajo impacto ambiental.

Teniendo en cuenta que la optimización de un proceso afectado por múltiples variables suele ser complejo, la preselección de aquellas que ejercen mayores efectos resulta de gran utilidad para conseguir rendimientos máximos. Por esta razón, en una primera instancia del trabajo llevado a cabo por Bengardino *et al*, (2019), estos autores realizaron una preselección de las variables más significativas, aplicando un diseño estadístico experimental de Plackett-Burmann, considerando siete variables (relación sólido-líquido, temperatura de extracción, porcentaje de etanol en el solvente, velocidad de agitación, pH, tiempo de extracción, baño ultrasónico) sobre la eficiencia del proceso medida a través del contenido de polifenoles totales, betacianinas y betaxantinas. Los resultados obtenidos mostraron que cada metabolito se vio afectado de manera diferente por las variables del proceso, siendo la temperatura el factor más

significativo para la extracción de polifenoles, el porcentaje de etanol para betaxantinas, mientras que, para betacianinas, la relación sólido-líquido, velocidad de agitación, pH y baño ultrasónico afectaron en igual medida a la extracción de este compuesto. Por lo tanto, estos autores seleccionaron el porcentaje de etanol, la temperatura de extracción y la relación sólidolíquido como las variables más significativas en este proceso de extracción. En una segunda etapa del trabajo, la optimización simultánea de estas variables permitió a los autores encontrar una situación de compromiso para obtener los rendimientos más altos posibles para los tres fitoquímcos. Las condiciones óptimas de extracción comprendieron una temperatura de 61 °C y el uso de etanol 80% (v/v) como solvente extractor en una relación sólido-líquido 1:10, manteniendo las demás variables en valores fijos (pH 6, 40 min de extracción, velocidad de agitación 60 rpm); bajo estas condiciones, el contenido de polifenoles, betacianinas y betaxantinas presentes en los extractos fueron 31,70 mg.g⁻¹ PS, 0,78 mg.g⁻¹ PS y 2,17 mg.g⁻¹ PS, respectivamente (Bengardino et al., 2019). Así, resulta importante destacar que el proceso de extracción desarrollado por Bengardino, et al (2019) permitió incrementar alrededor de 100 veces el rendimiento en la extracción de compuestos fenólicos y reducir notablemente los tiempos de extracción, en comparación con maceraciones utilizando etanol a 2 °C durante 2 h (Fernández et al., 2017a).

De esta manera, la optimización de métodos de extracción tradicionales, en combinación con el uso de solventes *GRAS*, constituyen una estrategia eficiente para dar valor a este producto subutilizado, obteniendo de este proceso un extracto enriquecido en compuestos bioactivos con potenciales aplicaciones en el desarrollo de alimentos fortificados.

Por otra parte, en línea con las demandas actuales de uso de metodologías de bajo impacto ambiental, los avances tecnológicos han puesto a disposición técnicas de asistencia del proceso de extracción que permiten incrementar aún más la eficiencia, a la vez que reducen los tiempos de tratamiento, los grandes volúmenes de solventes orgánicos utilizados y la energía consumida durante el proceso (Wang & Weller, 2006).

En este contexto numerosos autores han diseñado procesos de extracción de compuestos bioactivos asistidos por diferentes tecnologías, como ultrasonido (Chemat et al., 2017; Lasta et al., 2019; Nutter et al., 2020; Roriz et al., 2017; Tutunchi et al., 2019, Vulic et al., 2012), microondas (Roriz et al., 2017; Vinatoru et al., 2017) y fluidos supercríticos (Goyeneche et al., 2020; Lasta et al., 2019). Estos procesos, encuadrados dentro de los procesos conocidos como "Extracciones Verdes" (Galanakis, 2013), están siendo investigados y desarrollados con el objetivo de minimizar o evitar el uso de solventes orgánicos tradicionales, acortar el tiempo de tratamiento, disminuir la temperatura de procesamiento, intensificar el proceso de transferencia de masa, aumentar los rendimientos de extracción, preservar la alta calidad del extracto y reducir el consumo de energía (Chemat et al., 2012; 2015; 2017). Sin embargo, la aplicación de estas tecnologías para asistir en la extracción de compuestos bioactivos de hojas de remolacha aún no ha sido completamente explorada. Utilizando la tecnología de ultrasonido en combinación con mezclas de solventes GRAS, Lasta, et al (2019) obtuvieron extractos de hojas de remolacha cuyo contenido de polifenoles totales resultó hasta 3,5 veces superior al obtenido en extracciones sólido-líquido tradicionales. Estos autores también aplicaron la metodología de extracción con fluidos supercríticos, utilizando CO2 y etanol como cosolvente, pudiendo incrementar más de cuatro veces el rendimiento en la extracción en comparación con maceraciones. Goveneche, et al (2020) utilizaron la misma tecnología trabajando a dos presiones (300 y 400 bar) y tres temperaturas de extracción (35, 40 y 50 °C) y observaron que a presiones más altas (400 bar) y temperaturas más bajas (35 °C) se logran rendimientos más elevados. En estas condiciones, la concentración de polifenoles totales extraída es de 3,37 mg.g⁻ ¹ PS, este valor es 10 veces menor al obtenido por Bengardino, et al (2019) realizando extracciones sólido-líquido tradicionales bajo condiciones optimizadas. Si bien la concentración inicial de compuestos bioactivos en la materia prima puede verse afectada por diversos factores exógenos, por tratarse de una misma especie vegetal (*B. vulgaris* L.), se espera que esas variaciones no sean significativas. De esta manera, las diferencias observadas en los resultados presentados por diversos autores ponen de manifiesto la necesidad de optimizar las variables involucradas en el proceso de extracción para maximizar el rendimiento de estos compuestos bioactivos. Estudios recientes han demostrado que la tecnología de extracción asistida por ultrasonido, en combinación con el uso de solventes *GRAS*, ha permitido incrementar entre dos y ocho veces el rendimiento en la extracción de polifenoles, betacianinas y betaxantinas, disminuyendo notablemente los tiempos de tratamiento en comparación con maceraciones tradicionales (Nutter *et al.*, 2020), posibilitando, así, un mejor aprovechamiento integral de este recurso subutilizado.

4.4. <u>Desarrollo de alimentos con valor agregado</u>:

El uso de extractos naturales como aditivos en la elaboración de alimentos enriquecidos resulta una excelente solución a las demandas actuales hacia alimentos saludables, de elevado valor nutricional y libres de químicos sintéticos, permitiendo, a su vez, explotar por completo el potencial biológico de diversos subproductos.

En este sentido, estudios previos realizados por Fernández, *et al* (2017a), considerando el valor nutricional y bioactivo de hojas de remolacha y por Bengardino, *et al* (2019), teniendo en cuenta la optimización del proceso de extracción de compuestos bioactivos a partir de esta matriz, establecieron las bases que permitieron avanzar en la evaluación de estos extractos como ingredientes funcionales (Fernández *et al.*, 2020a).

En este contexto, Fernández, et al (2020a) consideraron la utilización de extractos de hojas de remolacha como agentes antimicrobianos para la conservación de alimentos. Los procesos tradicionales de conservación, como tratamientos térmicos, pueden alterar las características organolépticas y nutricionales de los alimentos a través de la eliminación o transformación de nutrientes termolábiles (Bevilacqua et al., 2018). Mientras que, la utilización de químicos sintéticos está siendo cada vez más rechazada por los consumidores preocupados por aspectos asociados a la salud (Asioli et al., 2017). Por lo tanto, el uso de extractos de remolacha como técnica de biopreservación constituiría una estrategia promisoria para la revalorización de este subproducto.

Los estudios realizados por Fernández et al (2020a) demostraron la capacidad antimicrobiana de extractos acuosos de hojas de remolacha frente a una amplia variedad de microorganismos, incluyendo especies bacterianas Gram positivas (L. innocua ATCC33090), Gram negativas (E. coli ATCC8739) y levaduras (Saccharomyces cerevisiae CBC1171) en sistemas de pH neutro (7,0) y ácido (3,7), pudiendo ser aplicados a diferentes alimentos. En particular, el efecto antimicrobiano frente a E. coli constituyó un resultado prometedor, dado que la mayoría de los antimicrobianos naturales no ejercen efectos inhibitorios sobre las bacterias Gram negativas, debido a las características protectoras de su membrana externa (Fernández et al., 2018a). El alto contenido de compuestos fenólicos en estos extractos (132,43 mg.g⁻¹ extracto) es considerado el principal responsable de la actividad antimicrobiana ejercida, debido a su capacidad para alterar la estructura de la membrana celular, afectando su permeabilidad y conduciendo a la muerte celular (López-Romero et al., 2018). Asimismo, estos extractos presentaron una elevada capacidad antioxidante (0,22 µmol equivalentes de Trolox (ET).g⁻¹ para la capacidad de reducción férrica, FRAP, y 28,90 µmol ET.g⁻¹ para la capacidad de secuestro del radical DPPH) pudiendo ser considerados como alternativa natural al uso de antioxidantes químicos (BHT y BHA), inhibiendo procesos oxidativos, preservando la calidad y manteniendo el valor nutricional de los productos alimenticios.

En otra instancia del trabajo llevado a cabo por Fernández, *et al* (2020a), se incorporaron los extractos de hojas remolacha (30% v/v) a los batidos mixtos de frutas y vegetales presentados previamente (4.2.). Los resultados fueron verdaderamente prometedores, los extractos de

remolacha no sólo incrementaron en un 50% el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de esta bebida, sino que redujeron entre uno y tres ciclos logarítmicos su microflora nativa durante el almacenamiento (5 °C), permitiendo extender el tiempo de vida útil de este producto por una semana adicional. Estos resultados demostraron la aptitud de este extracto natural para ser utilizado como conservante de alimentos con diferente grado de acidez (entre 3,7 y 7,0), permitiendo la preservación de un producto propenso al deterioro por una semana adicional, manteniendo sus capacidades antioxidantes, nutricionales, color, aroma y estabilidad microbiológica.

5. Conclusiones

Las hojas de remolacha representan el 46% del peso de la planta de remolacha, siendo su reutilización una excelente manera de aumentar el rendimiento del cultivo, maximizar la utilización de la biomasa, amortizar los costos asociados a su producción y reducir el impacto ambiental inducido por su descarte, mejorando la sustentabilidad de la cadena agroalimentaria. Las hojas de remolacha constituyen una materia prima con alto valor nutritivo, destacándose por su elevado contenido de proteínas, fibra dietaria, hierro y por su elevada calidad lipídica, rica en ácidos grasos poliinsaturados. Las características nutricionales, en adición a su elevada actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos, betalaínas, carotenoides y clorofilas, han motivado la búsqueda de alternativas de revalorización que permitan explotar por completo el alto valor biológico que posee este recurso subutilizado. Dentro de las estrategias abordadas en la bibliografía, se destacó el desarrollo de un alimento mínimamente procesado: hojas frescas, desinfectadas, cortadas y refrigeradas, cuya vida útil puede ser significativamente extendida mediante tratamientos con compuestos antimicrobianos naturales y técnicas de envasado en atmósferas modificadas. Combinadas, ambas tecnologías poseen un efecto sinérgico que posibilita controlar la proliferación de la microflora nativa y contaminaciones con subrogantes de patógenos. En particular, el extracto de té verde se destaca por ser un antimicrobiano efectivo frente un amplio espectro de microorganismos, a la vez que permite enriquecer este alimento con compuestos polifenólicos, incrementando su capacidad antioxidante.

Adicionalmente, con la intención de incrementar el uso de esta biomasa desaprovechada, y atendiendo a las demandas actuales de los consumidores hacia alimentos más saludables y libres de conservantes químicos, la inclusión de hojas y tallos de remolacha en la formulación de un batido mixto de frutas y vegetales, ha tenido muy buena aceptación en sus diversos atributos por parte de los consumidores. Entre las estrategias de conservación desarrolladas para este producto propenso a la degradación microbiana y enzimática se destaca la optimización de tratamientos no térmicos, como APH, con excelentes resultados que permiten mantener la estabilidad microbiológica y fisicoquímica de los batidos por 26 días a temperatura ambiente. Además, la combinación de este tratamiento con almacenamiento a temperaturas de refrigeración garantiza la seguridad alimentaria del batido ante una potencial contaminación con patógenos provenientes de la materia prima.

Por otra parte, el elevado contenido de compuestos bioactivos presente en hojas de remolacha ha motivado el desarrollo de procesos "verdes" de extracción, cuya optimización permite maximizar la recuperación de compuestos fenólicos y betalaínas, con mejoras de hasta 100 veces en el rendimiento. El uso de estos extractos naturales como técnica de biopreservación constituye una de las estrategias más promisorias para la revalorización de este subproducto. Su inclusión en batidos vegetales ha demostrado la aptitud de este extracto natural para ser utilizado como conservante de alimentos con diferente grado de acidez (entre 3,7 y 7,0),

permitiendo la preservación este producto por 14 días en refrigeración y manteniendo sus capacidades antioxidantes, nutricionales, color, aroma y estabilidad microbiológica.

6. Bibliografía

- Abd El-Ghffar, E.A., Hegazi, N.M., Saad, H.H., Soliman, M.M., El-Raey, M.A., Shehata, S.M., Barakat, A., Yasri, A., & Sobeh, M. 2019. HPLC-ESI-MS/MS analysis of beet (*Beta vulgaris*) leaves and its beneficial properties in type 1 diabetic rats. Biomedicine & Pharmacotherapy 120:109541. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019. 109541.
- Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible una oportunidad para América Latina y el Caribe. (2016). Organización de las Naciones Unidas (ONU). http://www.sela.org/media/2262361/a genda-2030-y-los-objetivos-dedesarrollo-sostenible.pdf.
- Alagoz, Y., Nayak, P., Dhami, N., & I. Cazzonelli, C.I. 2018. Cis-carotene biosynthesis, evolution and regulation in plants: The emergence of novel signaling metabolites. Archives of Biochemistry and Biophysics 654: 172-184. https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.07. 014.
- Amalraj A. & Pius, A. 2015. Bioavailability of calcium and its absorption inhibitors in raw and cooked green leafy vegetables commonly consumed in India-An in vitro study. Food Chemistry 170: 430-436. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2 014.08.031.
- Asioli, D., Aschermann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, Naæs, T., & Varela, P. 2017. Making sense of the "clean label" trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. Food Research International 99: 58-71. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022.

- 2009. Azeredo. H.M.C. Betalains: properties, sources, applications and stabilitya review. International Journal of Food Science and Technology 2365-2376. 44: doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry 99:191-203. 10.1016/j.foodchem.2005.07.042.
- Barba, F.J., Zhu, Z., Kaubaa, M., & Sant'Ana, A.S. 2016. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. Trends in Food Science and Technology 49: 96-109. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.0 06.
- Bengardino, M.B., Fernández, M.V., Nutter, J., Jagus, R.J., & Agüero, M.V. 2019. Recovery of bioactive compounds from beet leaves through simultaneous extraction: modelling and process optimization. Food and Bioproducts Processing 118: 227-236. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.0 13.
- Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Perricone, M., Speranza, B., Campaniello, Sinigaglia, M., & Corbo, M.R. 2018. Nonthermal technologies for fruit and vegetable juices and beverages: Overview advances. and Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17, 2-62. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12299.
- Biondo, P.F., Boeing, J.S., Barizão, E.O., Souza, N.E., Matsushita, M., Oliveira, C.C., Boroski, M., & Visentainer, J.V.

- 2014. Evaluation of beetroot (*Beta vulgaris* L.) leaves during its developmental stages: a chemical composition study. Food Science and Tecnology (Campinas) 34(1): 94–101. https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000007.
- Bruni, R. & Sacchetti, G. 2009. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). Molecules 14(2): 682–725. 10.3390/molecules14020682.
- Burgos, P., Madejón, P., Cabrera, F., & Madejón, E. 2010. By-products as amendment to improve biochemical properties of trace element contaminated soils: Effects in time. International Biodeterioration & Biodegradation 64: 481-488. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.05.009.
- Carrillo, L. & Bejarano, N.V. 2007. Frutas y hortalizas En: Manual de microbiología de alimentos. p. 71-83 (Carrillo, L., Audisio, M.C. Eds.).
- Chemat, F., Albert-Vian, M., & Cravotto, G. 2012. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. International Journal of Molecular Sciences 13: 8615-8627. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05. 037.
- Chemat, F., Fabiano-Tixier, A. S., Albert-Vian, M., Allaf, T., & Vorobiev, E. 2015. Solvent-free extraction of food and natural products. Trends in Analytical Chemistry 71: 157-168. https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02. 021.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. 2017. Review of green food processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. Innovative Food Science and Emerging Technologies 41: 357-377.

- http://dx.doi.or/10.1016/j.ulsonch.201 6.06.035.
- Clemente, R., Pardo, T., Madejón, P., Madejón, E., & Bernal, M.P. 2015. Food byproducts as amendments in trace elements contaminated soils. Food Research International 73: 176-189.
 - https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015. 03.040.
- Denoya, G. I., Fernández, M. V., Sanow, L. C., Bello, F., Jagus, R. J., Vaudagna, S. & Agüero, M. V. Revalorización subproductos de hortícolas: desarrollo de un batido mezcla de frutas y verduras estabilizado presiones con altas hidrostáticas. I Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Concordia, Argentina (October 25-27).
- Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C.G., & Barbero, G.F. 2017. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. Food Chemistry 219: 23-32. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2 016.09.122.
- FAO, 2002. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s 00.htm#Contents.
- FAO, 2011. The methodology of the FAO study: Global Food Losses and Food Waste-extent, causes and prevention.
- FAO, 2017. El futuro de la alimentación y la agricultura-Tendencias y desafíos. http://www.fao.org/3/a-i6881s.pdf.
- FAOSTAT, 2017. Base de Datos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Ferguson E. L., Gibson, R. S., Thompson, L. U., Ounpuu, S., & Berry, M. 1988. Phytate, zinc, and calcium contents of 30 East African foods and their calculated phytate: Zn, Ca: phytate, and [Ca][phytate]/[Zn] molar ratios.

- Journal of Food Composition and Analysis 1(4): 316-325.
- Fernández, M. V., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. 2017a. Evaluation and characterization of nutritional, microbiological and sensory properties of beet greens. Acta Scientific Nutritional Health, 1(3): 37-45.
- Fernández, M. V., Agüero, M. V., & Jagus, R.J. 2017b. Consumer acceptability and impact of handling conditions on sensory, microbiological and nutritional quality of beet leaves. American Journal of Food Technology, 12(5), 301–310.
- Fernández, M. V., Agüero, M. V., & Jagus, R. J. 2017c. Green tea extract: A antimicrobial natural with great potential for controlling native microbiota, Listeria innocua Escherichia coli in fresh-cut beet leaves. Journal of Food Safety 38(1): 1-9. https://doi.org/10.1111/jfs.12374.
- Fernández, M. V., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. 2018a. Natural antimicrobials for beet leaves preservation: In vitro and in vivo determination of effectiveness. Journal of Food Science & Technology 55(9): 3665-3674. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3295-7.
- Fernández, M. V., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. 2018b. Application of a combined treatment using natural antimicrobials and modified atmosphere packaging to enhance safety, quality, and shelf-life of freshcut beet leaves. Journal of Food Safety 12556.
 - https://doi.org/10.1111/jfs.12556.
- Fernández, M. V., Denoya, G. I., Agüero, M. V., Jagus, R. J., & Vaudagna, S. R. 2018c. Optimization of high-pressure processing parameters to preserve quality attributes of a mixed fruit and vegetable smoothie. Innovative Food Science & Emerging Technologies 47: 170-179.
 - https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.011.

- Fernández, M. V., Denoya, G. I., Jagus, R. J., Vaudagna, S. R., & Agüero, M. V. 2019a. Microbiological, antioxidant and physicochemical stability of a fruit and vegetable smoothie treated by high pressure processing and stored at room temperature. LWT- Food Science and Technology 105: 206-210. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.0 30
- Fernández, M. V., Denoya, G. I., & Agüero, M. V., Vaudagna, S. R., Jagus, R. J. 2019b. Quality preservation and safety ensurement of a vegetable smoothie by high-pressure processing. Journal of Food Processing and Preservation 14326.https://doi.org/10.1111/jfpp.143 26.
- Fernández, M. V., Bengardino, M. B., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. 2020a. Enrichment and preservation of a vegetable smoothie with an antioxidant and antimicrobial extract obtained from beet by-products. LWT Food Science and Technology, 117, 108622. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108622.
- Fernández, M. V., Agüero, M. V., & Jagus, R. J. 2020b. Effect of packaging material on the quality of fresh-cut beet leaves packed in modified atmospheres. Journal of Food Processing and Preservation 14552. https://doi.org/10.1111/jfpp.14552.
- Ferruzzi, M.G. & Blakeslee, J. 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. Nutrition Research 27(1): 1-12. 10.1016/j.nutres.2006.12.003.
- Galanakis, C.M. 2012. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. Trends in Food Science and Technology 26: 68-87. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.0 03.
- Galanakis, C. M. 2013. Emerging technologies for the production of

- nutraceuticals from agricultural byproducts: a viewpoint of opportunities and challenges. Food Bioproduct Processing 91: 575-579. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.01.0
- Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, P., Vega-Gálvez, A. Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., Di Scala, K. 2015. Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. Journal of functional foods 16: 256–264. http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.04. 049.
- Goyeneche, R., Di Scala, K., Ramirez, C.L., & Fanovich, M.A. 2020. Recovery of bioactive compounds from beetroot leaves by supercritical CO₂ extraction as a promising bioresource. The Journal of Supercritical Fluids 155: 104658.
 - https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.1 04658.
- Gómez-Paccard, C., Mariscal-Sancho, I., León, P., Benito, M., González, P., Ordóñez, R., Espejo, R., & Hontoria, C. 2013. Ca-amendment and tillage: Medium term synergies for improving key soil properties of acid soils. Soil & Tillage Research 134: 195-206. https://doi.org/10.1016/j.still.2013.08. 009.
- Guneser, O. 2018. Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. Food Chemistry 196: 220–227. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2 015.09.033.
- Gupta S., Jyothi-Lakshmia, A., Manjunathb, M.N., & Prakash, J. 2005. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. LWT-Food Science and Technology 38(4): 339-345. 10.1016/j.lwt.2004.06.012.
- Gupta, S., Chatterjee, S., Vaishnav, J., Kumar, V., Variyar, P.S., & Sharma, A. 2012. Hurdle technology for shelf stable minimally processed French

- beans (*Phaseolus vulgaris*): A response surface methodology approach. LWT Food Science and Technology, 48: 182-189. 10.1016/j.lwt.2012.03.010.
- Gustavsson J., Cederberg, C., Somesson, U., van Otterdijk, R., & Meybeck, A. 2011. The methodology of the FAO study: Global Food Losses and Food Waste-extent, causes and prevention.
- Hegazi, N. M., Radwan, R. A., Ali, S. M., & Saad, H. H. 2020. Molecular networking aided metabolomic profiling of beet leaves using three extraction solvents and in relation to its anti-obesity effects. Journal of Advanced Research. https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.06.001.
- Kujala, T., Vienola, M., Klika, K., Loponen, J., & Pihlaja, K. 2001.
 Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars.
 European Food Research and Technology 214(6): 505-510. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.20 10.12.026.
- Lasta, H.F.B., Lentz, L., Mezzomo, N., Salvador-Ferreira, S. R.. 2019. Supercritical CO₂ to recover extracts enriched in antioxidant compounds from beetroot aerial parts. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 19: 101169.
 - https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.10 1169.
- Leite, C. W., Boroski, M., Schuelter-Boeing, J., Aguiar A. C., Batoqui-França, P., de Souza, N. E., & Visentainer, J. V. 2011. Chemical characterization of leaves of organically grown carrot (*Dacus carota* L.) in various stages of development for use as food. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 31(3): 735-738.
- Livingstone, K.M., Burton, M., Brown, A.K., Sarah A. & McNaughton, S.A. 2020. Exploring barriers to meeting recommendations for fruit and vegetable intake among adults in regional areas: A mixed-methods

- analysis of variations across sociodemographics. Appetite 153: 104750. https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.104750.
- Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. & Ferreres, F. 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. Food Chemistry 108(3): 1028-1038. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.20 07.11.032.
- López-Alarcón C. & Denicola A. 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. Analytica Chimica Acta 763: 1-10. http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.1 1.051.
- López-Romero J.C., Ayala-Zavala J.F., Adolfo G., Peña-Ramos E.A., González-Ríos H. 2018. Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. Journal of the Science Food 98: 2461-2474.
- Maffei D.F., Ferraz de Arruda-Silveira, N., & daPenha Longo-Mortatti-Catanozi, M. 2013. Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil. Food Control 29(1): 226-230. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.201
 - https://doi.org/10.1016/j.foodcont.201 2.06.013.
- Miller, A.P., Coronela, J., & Amengual, J. 2020. The role of β-carotene and vitamin A in atherogenesis: Evidences from preclinical and clinical studies. BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids, In press. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158635.
- Mirabella, N., Castellani, V., & Sala, S. 2014. Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. Journal of Cleaner Production 65: 28-41. http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.201 3.10.051.

- Mukhopadhyay, S., Sokorai, K., Ukuku, D., Fan, X., Juneja, V., Sites, J., & Cassidy, J. 2016. Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe puree by high hydrostatic pressure with/without added ascorbic acid. International Journal of Food Microbiology 235: 77-84. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2 016.07.007.
- Nutter, J., Fernández, M.V., Jagus, R.J., & Agüero, M.V. 2020. Development of an aqueous ultrasound-assisted extraction process of bioactive compounds from beet leaves: a proposal for reducing losses and increasing biomass utilization. Journal of the Science of Food and Agriculture, https://doi.org/10.1002/jsfa.10815.
- O'Neill, K.N., Fitzgerald, A.P., & Kearney, P.M. 2020. Impact of population distribution shifts in sugar-sweetened beverage consumption on type II diabetes incidence in Ireland. Annals of Epidemiology 41: 1-6. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.20 19.12.007.
- Otálora, C.M., Bonifazi, E.L., Fissore, E.N., Basanta, M.F., & Gerschenson, L.N. 2020. Thermal stability of betalains in by-products of the blanching and cutting of *Beta vulgaris* L. var *conditiva*. Polish Journal of Food and Nutrition Science 70(1):15-24. 10.31883/pjfns/116415.
- Pandey, K.B. & Rizvi, S.I. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2(5): 270-278. 10.4161/oxim.2.5.9498.
- Pires-Goncalvez, L.C., Martorelli-Di Genova, B., Dorr, F.A., Pinto, E., Leite-Bastos, E. 2013. Effect of dielectric microwave heating on the color and antiradical capacity of betanin. Journal of Food Engineering 118(1): 49-55. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.201 3.03.022.

- Płatosz, N., Sawicki, T., & Wiczkowski, W. 2020. Profile of phenolic acids and flavonoids of red beet and its fermentation products. Does long-term consumption of fermented beetroot juice affect phenolics profile in human blood plasma and urine? Polish Journal of Food and Nutrition Science 70(1): 55-65. 10.31883/pjfns/116613.
- Ponce, A. G., Agüero, M. V., Roura, S. I., Del Valle, C. E., & Moreira, M. R. 2008. Dynamics of indigenous microbial populations of butter head lettuce grown in mulch and on bare soil. Journal of Food Science 73(6): 257-263 https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00789.x.
- Queiroz-Zepka, L., Eduardo Jacob-Lopes, E., & Roca, M. 2019. Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. Current Opinion in Food Science 26: 94-100. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04. 004.
- Rivas, A., Blengino, C., Alvarez de Toledo, B., & Franco, D. 2015. Pérdidas y desperdicio alimentario (PDA) en Argentina. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina. http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revist as/nota.php?id=104
- Rodriguez-Amaya, D.B. 2016. Natural food pigments and colorants. Current Opinion in Food Science, 7, 20-26. http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.0 8.004.
- Roriz, C. L., Barros, L., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. 2017. Modern extraction techniques optimized to extract betacyanins from *Gomphrena globosa* L. Industrial Crop and Products 105: 29-40. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017. 05.008.
- Sánchez-Chávez, W., Cortez-Arredondo, J., Solano-Cornejo M., & Vidaurre-Ruiz, J. 2015. Cinética de degradación

- térmica de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en una bebida a base de jugo de remolacha (*Beta vulgaris* L.) y miel de abeja. Scientia Agropecuaria, 6(2): 111-118. 10.17268/sci.agropecu.2015.02.03.
- Sánchez-Vega, R., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. 2014. Effects of high-intensity pulsed electric fields processing parameters on the chlorophyll content and its degradation compounds in broccoli juice. Food and Bioprocess Technology 7(4): 1137-1148.
- Schieber, A., Stintzing F. C., & Carle, R. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. Trends in Food Science & Technology 12: 401-413. 10.1007/s11947-013-1152-2.
- Sepúlveda-Jiménez, G., Rueda-Benítez, P., Porta, H., Rocha-Sosa, M. 2004. Betacyanin synthesis in red beet (*Beta vulgaris*) leaves induced by wounding and bacterial infiltration is preceded by an oxidative burst. Physiological and Molecular Plant Pathology, 64(3), 125-133.
- Slavov, A., Karagyozov, V., Denev, P., Kratchanova, M., & Kratchanov, C. 2013. Antioxidant activity of red beet juices obtained after microwave and thermal pretreatments. Czech Journal of Food Sciences, 31: 139-147. 10.17221/61/2012-CJFS.
- Roufegarinejada, Tutunchi, P., Hamishehkarb, H., & Alizadeh, A. 2019. Extraction of red beet extract β-cyclodextrin-enhanced with ultrasound assisted extraction: strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. Food Chemistry 297: 124994. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.20 19.124994.
- Twarog, J.P., Peraj, E., Oren S. Vaknin, O.S., Russo, A.T., Woo-Baidal, J.A., & Sonneville, K.R. 2020. Consumption

- of sugar-sweetened beverages and obesity in SNAP-eligible children and adolescents. Primary Care Diabetes 14: 181-185.
- https://doi.org/10.1016/j.pcd.2019.07. 003.
- Valdés-Agueta, N.M. 2018. Evaluación de los residuos, hojas y tallos, de remolacha (*Beta vulgaris*) para consumo humano. Licenciatura thesis, Universidad de San Carlos de Guatemala.
 - http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/10899.
- Villaño, D., García, & C. Mera, P. 2016. Colors: Health effects. In: Encyclopedia of Food and Health. p. 265-277 (Caballero, B. Finglas, P., Toldrá, F. Eds.).
- Vinatoru, M. Mason, T.J., & Calinescu, I. 2017. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted

- extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. Trends in Analytical Chemistry 97: 159-178.
- http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.0 9.002.
- Vulic, J., Canadanovic-Brunet, J., Cetkovic, G., Tumbas, V., Djilas, S., Cetojevic-Simin, D., & Canadanovic, V. 2012. Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. Journal of Functional Foods 4: 670-678. https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.04.0
- Wang, L. & Weller, C. L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science and Technology 17: 300-312.
 - Horticultura Argentina es licenciado bajo Lice ncia Creative Commons Atribución-No Comercial 2.5 Argentina.