



Universidad del Azuay

Departamento de Posgrados

Maestría en Desarrollo e Innovación de
alimentos

**Evaluación de la capacidad antioxidante y
antiinflamatoria *in vitro* de barras proteicas con
extractos de hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*),
menta (*Mentha piperita L.*) y ortiga (*Urtica
dioica*).**

Autora:

BQF. Diana Estefanía Narváez Chacón.

Director:

MSc. Mateo Cordero Clavijo.

Cuenca – Ecuador

2025

DEDICATORIA

A Dios, por la luz y la fuerza.
A mi esposo, por ser mi compañero, mi soporte en cada momento de este camino.
A mi hijo Francisco, por ser el amor más grande y el motor de mis sueños.
A mi familia, por su apoyo inquebrantable.
A todos los que me tendieron la mano, mi más sincero agradecimiento.

Este logro es el reflejo de todo su amor.

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios, por brindarme sabiduría y acompañarme a culminar con éxito esta maestría. A mi director de tesis MSc. Mateo Cordero por su orientación y apoyo en el desarrollo de este trabajo de investigación.

A todos los profesores de la maestría de I&D de la Universidad del Azuay, por su compromiso en transmitir sus conocimientos.

A Diego, Daniela y Nicole por su ayuda y guía en realizar todos los análisis realizados en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al grupo de investigación NutriOmics de la Universidad del Azuay, proyecto 2024-0109: «Identificación y valoración de fuentes proteicas de la región andina (Ecuador), su potencial tecno-funcional, nutricional y de beneficios para la salud. Proyecto en colaboración con el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), a través de la Red 124RT0164.

RESUMEN:

En este estudio se evaluó la capacidad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* de barras proteicas enriquecidas con extractos etanólicos de hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*), menta (*Mentha piperita L*) y ortiga (*Urtica dioica*). Las barras se enriquecieron con mezclas en proporciones adecuadas para la ingesta diaria recomendada de fenólicos en un 50%, 25% y 12,5%. El contenido fenólico y actividad antioxidante fueron significativamente superiores en la barra 50% con valores de contenido de polifenoles (110,50 mg EAG/50g) y actividad antioxidante (502,77 mg Trolox/50g). El ensayo de inhibición de óxido nítrico en macrófagos RAW 264.7 demostró que, a una concentración de 100 mg/mL, la barra 50% exhibió una actividad antiinflamatoria (83,8% de inhibición) según el ensayo de Griess. Todas las formulaciones mostraron actividad inhibitoria, destacándose la barra con 50% de extractos, que exhibió la mayor inhibición (83,8) a una concentración de 100 mg/mL, indicando un potente efecto antiinflamatorio.

Palabras clave: Barras proteicas, antioxidante, fitoquímicos, extractos vegetales, antiinflamatorio *in vitro*.

ABSTRACT:

This study evaluated the *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory capacity of protein bars enriched with ethanolic extracts of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), mint (*Mentha piperita L*), and nettle (*Urtica dioica*). Bars were fortified with extract mixtures at concentrations of 50%, 25%, and 12,5%, calculated to meet a significant portion of the recommended daily phenolic intake. The phenolic content and antioxidant activity were significantly higher in the 50% bar, with values of 110,50 mg GAE/50g and 502,77 mg Trolox/50g, respectively. The nitric oxide (NO) inhibition assay in RAW 264,7 macrophages, measured using the Griess method, demonstrated that at a sample concentration of 100 mg/mL, the 50% bar exhibited the highest anti-inflammatory activity (83,8% inhibition). While all formulations showed inhibitory activity, the 50% extract bar demonstrated a potent anti-inflammatory effect. These results indicate that enriching protein bars with these botanical extracts is a viable strategy for developing functional foods with significant bioactive properties.

Keywords: Protein bars, antioxidant, phytochemicals, plant extracts, *in vitro* anti-inflammatory.

INDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	III

Capítulo I: Introducción

1.1 Introducción.....	1
-----------------------	---

Capítulo II: Metodología

2.1 Metodología.....	3
2.2 Obtención de extractos de hierbaluisa, menta y ortiga.....	3
2.3 Formulación de barras proteicas.....	4
2.3.1 Dosis de extracto de hierbaluisa, menta y ortiga en formulación de barras flujo.....	4
2.4 Evaluación de textura de barras.....	5
2.5 Evaluación de color de barras.....	5
2.6 Cuantificación de polifenoles por Folin-Ciocalteu.....	5
2.7 Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH.....	6
2.8 Simulación de digestión gastrointestinal.....	6
2.8.1 Evaluación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	6
2.9 Análisis estadístico.....	7

Capítulo III: Resultados y discusión

3.1 Resultados y discusión.....	8
3.1.1 Capacidad antioxidante y fenólicos totales de los extractos.....	8
3.1.2 Capacidad antioxidante y fenólicos totales de las barras.....	9
3.2 Evaluación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	10
3.3 Perfil de textura y color en barras enriquecidas.....	12
4. Conclusiones.....	15
5. Recomendaciones.....	16
6. Bibliografía.....	21

Índice de tablas

Tabla 1	4
<i>Contenido de extractos de hierbaluisa, menta y ortiga utilizados en las barras proteicas (mL).</i>	
Tabla 2	8
<i>Capacidad antioxidante y fenólicos totales de los extractos etanólicos de ortiga, hierba luisa y menta</i>	
Tabla 3	9
<i>Capacidad antioxidante y fenólicos totales de barras enriquecidas</i>	
Tabla 4	11
<i>Inhibición de la producción de óxido nítrico (%) en macrófagos tratados con diferentes concentraciones de muestras.</i>	
Tabla 5	13
<i>Perfil de textura y color de barras enriquecidas</i>	

Índice de Anexos:

Anexo 1. Hojas de hierbaluisa, ortiga en desecador	
Anexo 2. Hojas de menta en el desecador	
Anexo 3. Hojas pulverizadas de menta.	
Anexo 4. Preparación de alcohol 70%.	17
Anexo 5. Preparación de extractos etanólicos	
Anexo 6. Filtración de macerado de extractos	
Anexo 7. Concentrador al vacío con extractos filtrados.	
Anexo 8. Extractos etanólicos de hierbaluisa, menta y ortiga	18
Anexo a 9. Liofilizador	
Anexo 10. Liofilizados de extractos y muestras digeridas congeladas	
Anexo 11. Liofilizado de barras proteicas.	
Anexo 12. Pesaje de muestra para su respectivo análisis.	
Anexo 13. Soluciones enzimáticas.	
Anexo 14. Suero bovino... ..	19
Anexo 15. Evaluación de la actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	
Anexo 16. Colorímetro... ..	20

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

En los últimos años, se ha observado una tendencia creciente hacia una alimentación holística que prioriza la salud, lo que ha impulsado el consumo de alimentos funcionales, como probióticos, alimentos ricos en antioxidantes y ácidos grasos omega-3 (Smith et al., 2021; Tzackenzo et al., 2025). Estos componentes, integrados en una dieta equilibrada y complementados con ejercicio regular, ejercen un efecto protector para la salud (Delgado Maldonado & Ortiz Tobar, 2022). Si bien la actividad física es un componente esencial para una vida saludable y activa, el ejercicio intenso puede inducir estrés oxidativo, un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los mecanismos antioxidantes endógenos (Guan et al., 2021; El Menyiy et al., 2022). Este estado de estrés oxidativo desencadena una respuesta inflamatoria que, aunque inicialmente es un mecanismo de defensa natural, si no se regula adecuadamente, puede volverse crónica y tener consecuencias negativas, contribuyendo al desarrollo de diversas patologías como cardiopatías, cáncer y diabetes (Consolini et al., 2023; Pilco et al., 2023)

Frente a este escenario, la investigación alimentaria se ha orientado hacia la búsqueda de ingredientes naturales con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. En este contexto, los fitoquímicos, como ácidos fenólicos, flavonoides y carotenoides, han cobrado especial relevancia por su capacidad para neutralizar radicales libres, regular la actividad de enzimas proinflamatorias y modular la señalización celular (Samtiya et al., 2021; Guan et al., 2021). Las barras proteicas, por su practicidad y valor nutricional, se perfilan como una matriz alimentaria ideal para la suplementación con estos ingredientes bioactivos (Farouk Abdel-salam et al., 2022). Su potencial se ve ampliado al poder combinarse con proteínas de alta calidad, como la proteína de suero de leche, que participa efectivamente en la recuperación muscular post-ejercicio (Nieman et al., 2020), y con carbohidratos de bajo índice glucémico que favorecen una liberación sostenida de energía (Salehi et al., 2021). Estos compuestos han sido asociados con efectos antioxidantes, antiinflamatorios y de mejora en la salud gastrointestinal (Santibañez et al., 2022).

Diversas plantas medicinales representan fuentes promisorias de estos compuestos bioactivos. Específicamente, la hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*), la menta (*Mentha piperita L*) y la ortiga (*Urtica dioica*), especies utilizadas en la medicina tradicional ecuatoriana, han sido

caracterizadas por su alto contenido de compuestos fenólicos (entre 80 y 150 mg/g de extracto seco) y flavonoides como luteolina, apigenina, ácido rosmarínico, quercetina y kaempferol (Devkota et al., 2022; El Menyiy et al., 2022; Marrassini et al., 2023). Estos extractos han demostrado una potente actividad antioxidante in vitro (capacidad de captación de radicales DPPH que oscila entre 500 y 1300 $\mu\text{mol ET/g}$) y efectos antiinflamatorios significativos, como la reducción de citoquinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) y la promoción de enzimas antioxidantes endógenas como el superóxido dismutasa (SOD) (Biltekin et al., 2023; Guan et al., 2021; Quintanilla-Licea et al., 2023). La extracción de estos compuestos mediante técnicas como la maceración o la extracción asistida por ultrasonido permite obtener concentrados ricos en principios activos (Chemat et al., 2021; Santibañez et al., 2022), cuyo éxito en la fortificación de alimentos funcionales ha sido previamente documentado con ejemplos como los extractos de té verde en barras energéticas o la cúrcuma en batidos proteicos (Nieman et al., 2020; Devkota et al., 2022).

Es por todo lo mencionado que, en este trabajo, se evaluó los efectos de la inclusión de extractos de tres plantas medicinales de Ecuador: hierbaluisa, menta y ortiga en barras proteicas. Estas plantas previamente han sido caracterizadas por su contenido de compuestos fenólicos, en particular flavonoides y antocianinas, con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias previamente reportadas (Biltekin et al., 2023; Devkota et al., 2022; El Menyiy et al., 2022; Marrassini et al., 2023; Quintanilla-Licea et al., 2023). Estos resultados respaldan su potencial como fuentes de compuestos bioactivos funcionales que podrían contribuir a la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y la inflamación crónica.

CAPÍTULO II

2.1 Metodología

Todos los análisis del presente estudio se llevaron a cabo en los laboratorios de Bioprocesos, Química analítica y Cuarto de cultivo celular del Campus Tech y los laboratorios de tecnología de la escuela de Ingeniería en alimentos de la Universidad del Azuay.

2.2 Obtención de extractos de hierbaluisa, menta y ortiga.

El proceso de extracción de compuestos bioactivos se realizó mediante una técnica de maceración utilizando alcohol al 70%, siguiendo el protocolo descrito por Culqui et al. (2020). Se adquirieron las plantas de hierbaluisa, menta y ortiga en un mercado local (Cuenca, Ecuador). Posteriormente, las hojas se secaron en un secador de aire forzado (Tecnoplast, Italia) a una temperatura constante de 37 °C durante 72 horas, hasta alcanzar una humedad inferior al 10%. Las plantas secas se trituraron en un molino (KRUPS, Groupe SEB México) hasta obtener un tamaño de partícula de 0,5 mm. La extracción se realizó con una relación planta a disolvente de 1/10 (100 g de planta seca con 900 mL de etanol 70%). La mezcla se colocó en frascos ámbar con tapa y se dejó en el rodillo digital de botellas (Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific Inc, Estados Unidos) a 80 rppm durante 24 horas a temperatura 16-25⁰C. Las suspensiones se refrigeraron durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, la mezcla se filtró utilizando un embudo de vidrio y papel filtro grado 1 Whatman, recuperando el extracto líquido. Posteriormente los extractos se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos a 4 °C (Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific Inc, Estados Unidos). Subsecuentemente los sobrenadantes (extractos) se concentraron al vacío (CHRIST, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, Alemania) a 40 °C durante 12 horas para eliminar el disolvente y obtener el extracto acuoso con los compuestos bioactivos. Finalmente, las muestras fueron refrigeradas y liofilizadas a -65 °C durante 120 horas a <100 Pa (KD-10N- Series Freeze Dryer, ZZKD, China), el extracto en polvo obtenido se almaceno a -20 °C hasta su posterior uso.

2.3 Formulación de barras proteicas.

Para la elaboración de las barras proteicas, se realizó una formulación estándar para unidades de 50 g, compuesta por 10 g de proteína de suero de leche concentrada (Beverly, Kentucky, Estados Unidos, 1 scoop (28.5 g proteína)), 20 g de avena en hojuelas (Schullo, Quito, Ecuador), 5 g de semillas de chía (Cuenca, Ecuador), 10 mL de bebida de almendras (Silk, Cota, Colombia), 10g frutos secos (almendras y nueces) (Basesur, Durán, Ecuador) y 20 mg de canela (La Cena, Guayaquil, Ecuador). Adicionalmente, se incorporó una mezcla de extractos liofilizados de las plantas medicinales seleccionadas (ortiga, menta y hierbaluisa, Cuenca, Ecuador), como se detalla en la tabla 1. Los ingredientes secos se pesaron y mezclaron manualmente durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron los ingredientes líquidos y se procedió a formar las barras moldes de acero inoxidable. Las barras se hornearon (Zafiro, Indurama, Cuenca, Ecuador) a una temperatura de 180°C durante 15 minutos y se dejaron enfriar a una temperatura 16-25°C previo a su posterior análisis.

2.3.1 Dosis de extracto de hierbaluisa, menta y ortiga en formulación de barras.

La proporción de extractos de hierbaluisa, menta y ortiga incorporada en la formulación de las barras proteicas se determinó a partir de los resultados de la capacidad antioxidante (Folin-Ciocalteu) de hierba luisa ($2.307,98 \pm 84,75$ mg de Ác. Gálico/ L), menta ($2.182,42 \pm 64,28$ mg de Ác. Gálico/ L), y ortiga ($1.236,26 \pm 70,48$ mg de Ác. Gálico/ L), respectivamente. Para alcanzar una dosis efectiva del 100% en términos de equivalentes de ácido gálico, los extractos se combinaron en las siguientes proporciones porcentuales: 38% de hierbaluisa, 40% de menta y 22% de ortiga. A partir de esta mezcla, se elaboraron barras proteicas con tres dosis finales de extractos del 50%, 25% y 12,5%, además de una barra control sin adición de extractos (0%) como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de extractos de hierbaluisa, menta y ortiga utilizados en las barras proteicas (mL).

	Hierbaluisa	Menta	Ortiga
Barra control	0	0	0
Barra 12,5%	2,78	2,87	1,6
Barra 25%	5,57	5,75	3,2
Barra 50%	11,15	11,5	6,4

2.4 Evaluación del perfil de textura de barras proteicas enriquecidas

Para la determinación de la textura se analizó cada tratamiento por triplicado en un texturómetro (TA. XTplusC Texture Analyser, Surrey, Reino Unido) con una sonda de cuchillo ranurada HDP/BS. El procedimiento siguió la metodología previamente descrita por Aguilar et al. (2020). Brevemente, la muestra se colocó en el centro de la plataforma, justo debajo del borde del cuchillo, y posteriormente se configuraron los parámetros de análisis: velocidad pre-prueba de 1,5 mm/segundo, velocidad de prueba de 2 mm/segundo, velocidad post-prueba de 10 mm/segundo, distancia de penetración de 5 mm y fuerza de disparo de 5 g.

2.5 Evaluación de color de barras

El ensayo de colorimetría se realizó con un colorímetro espectral (Lovibond LC100, Dortmund Aplerbeck, Alemania), previamente calibrado. El procedimiento siguió la metodología previamente descrita por Muñoz-Murillo et al. (2024). Brevemente, el equipo se colocó sobre la base y superficie de la muestra y se procedió a medir el color mediante la captura de la luz reflejada en el producto final. Los parámetros determinados fueron L^* (0 = negro; 100 = blanco), a^* (+ = rojo; - = verde) y b^* (+ = amarillo; - = azul).

2.6 Cuantificación de polifenoles por Folin-Ciocalteu

La cuantificación de polifenoles totales se realizó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, (Dorantes-Salazar et al., 2023). Para la preparación de la muestra, se pesaron 3,34 g de la barra proteica y se mezclaron con 16,66 mL de alcohol 70%. La mezcla se agitó en el rodillo digital de botellas Thermo Scientific a 80 rppm durante 4 horas a temperatura 16-25⁰C, posteriormente se filtró utilizando un embudo de vidrio y papel filtro grado 1 Whatman. El filtrado se concentró al vacío CHRIST a 40°C durante 2 horas para eliminar el disolvente. Se tomaron 100 μ L del líquido concentrado y se añadieron 2 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Tras 5 minutos, se agregó 1 mL de carbonato de sodio al 20%. La mezcla se incubó en oscuridad durante 2 horas y se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (Epoch, Biotek Instruments, España). Los resultados obtenidos se compararon con una curva de calibración elaborada a partir de ácido gálico.

2.7 Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH

Este ensayo se realizó siguiendo el método descrito por Dorantes-Salazar et al. (2023). Se añadió 50 µL de muestra más 1,95 mL de solución metanólica de DPPH (40µM), la mezcla se homogeneizó manualmente, se mantuvo en la oscuridad durante 30 min y se dio lectura a las placas a 517 nm en el espectrofotómetro. El antioxidante sintético de referencia Trolox, se preparó en concentraciones entre 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mM de disolución de metanol al 80%.

2.8 Simulación de la digestión gastrointestinal

Para el análisis *in vitro* de las barras proteicas se simuló la digestión gastrointestinal siguiendo el método descrito por Tapia, et al. (2022) con ligeras modificaciones. Para esto, se prepararon soluciones enzimáticas que simulan las condiciones salivales (α -amilasa), gástricas (pepsina y duodenales (pancreatina y lipasa), así como una solución de bilis con sales biliares. La digestión se llevó a cabo incubando 0,5 g de barra molida a 37°C en un baño maría (SHELL LAB, Sheldon Manufacturing, Inc, EE, UU) durante 10 minutos. Luego, se añadieron secuencialmente las soluciones enzimáticas, simulando las fases de digestión: 5 mL de solución salival (10 min), 10 mL de solución gástrica (1 h) y 12 mL de solución duodenal con 3 mL de bilis (1 h). Se aplicó agitación en vortex cada 10 minutos durante las incubaciones gástrica y duodenal. Tras la incubación, las muestras se mantuvieron en hielo durante 20 minutos para inhibir la actividad enzimática y se centrifugaron a 9000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Subsecuentemente, el sobrenadante se recuperó, se etiquetó y ultracongeló a -80°C. Posteriormente las muestras digeridas fueron liofilizadas a -65°C durante 120 horas a <100 Pa (KD-10N-Series Freeze Dryer), el polvo obtenido se almaceno en el congelador.

2.8.1 Evaluación de la actividad antiinflamatorio *in vitro*.

Se utilizó la línea celular de macrófagos murinos RAW 264,7 (ATCC, Manassas, EE. UU.) para evaluar la actividad antiinflamatoria de las barras proteicas previamente digeridas siguiendo el método descrito por Buitimea-Cantúa et al. (2020). Se realizaron diluciones seriadas de la muestra (100mg/mL, 50mg/mL y 25mg/mL) en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM-F12) suplementado con suero bovino fetal (SBF) al 10%. Se sembraron 50.000 células/mL en una microplaca de 96 pocillos y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, se añadieron 50 µL de cada dilución de la muestra por triplicado y se incubaron durante 4 horas a 37°C. Transcurrido el tiempo de incubación, la mitad de los pocillos se

estimularon con lipopolisacáridos (LPS, SIGMA – ALDRICH, Co.) a una concentración final de 10 µg/mL (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, EE. UU.) durante 24 horas, mientras que la otra mitad se mantuvo como control. La producción de óxido nítrico (NO) se determinó midiendo la concentración de nitritos en el medio de cultivo mediante el Kit de reactivo de Griess (Thermo Fisher Scientific). Para ello, se añadieron 100 µL de medio de cultivo a cada pocillo de una nueva microplaca, seguido de 80 µL de agua destilada y 10 µL de reactivo de sulfanilamida. Tras 10 minutos de incubación, se añadieron 10 µL de reactivo NEDD y se incubó durante 10 minutos adicionales. La absorbancia se midió a 590 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó una curva estándar de nitrito para la cuantificación. Los resultados se expresaron como el porcentaje de inhibición de la producción de NO.

2.9 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los ensayos triplicados fueron evaluados estadísticamente mediante el software Minitab (Minitab, LLC, EEUU), para el cual se aplicó la prueba de ANOVA, seguido de una prueba de Tukey con una confianza del 95%, para evaluar si hay diferencias significativas.

CAPÍTULO III

3.1 Resultados y discusión

3.1.1 Capacidad antioxidante y fenólicos totales de los extractos.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la actividad antioxidante de los extractos, expresados en mmol de equivalentes de Trolox por mL de extracto (mmol Trolox/mL) y el contenido de fenoles totales expresados en mg GAE/ L

Tabla 2. Capacidad antioxidante y fenólicos totales de los extractos etanólicos de ortiga, hierbaluisa y menta

Extracto	mmol Trolox /mL de extracto	mg GAE/ L
Ortiga	634 ± 27,64 B	1.236,26 ± 70,48 C
Hierbaluisa	1.169,07 ± 55,52 A	2.307,98 ± 84,75 A
Menta	1.055,52 ± 50,49 A	2.182,42 ± 64,28 B

Valores expresados como media ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Estos hallazgos coinciden con estudios previos que destacan la eficacia antioxidante de estos extractos (Pereira et al., 2021; Enríquez et al., 2023). En el caso de la hierbaluisa, su actividad antioxidante fue comparable a lo reportado por Pereira et al. (2021) (1100 mmol TE/mL) y se asocia a la presencia de citral, β -mirceno, geraniol y flavonoides, compuestos con capacidad de neutralizar radicales libres (Enríquez et al., 2023). Por su parte, la menta exhibió un valor superior al documentado por Zhou et al. (2022) (800–950 μ mol TE/mL), atribuido principalmente al ácido rosmarínico (Džamić et al., 2020). Finalmente, la ortiga presentó una actividad superior a los 600 μ mol TE/mL registrados por Kregiel et al. (2018). Estos resultados no solo confirman su potencial bioactivo para el enriquecimiento de las barras, sino que la variación reportada respecto a la literatura puede deberse a factores técnicos y ambientales inherentes al procesamiento de las materias primas vegetales

Se observó una correlación directa entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales. El extracto de hierbaluisa (2.307,98 mg GAE/L) presentó la concentración más alta de fenoles totales que puede asociarse a la presencia de compuestos bioactivos como el ácido rosmarínico, la isoorientina, la swertiajaponina, luteolina y apigenina identificados previamente como los principales fenoles en esta especie (Athanasiadis et al., 2024; Devkota et al., 2022).

Estos hallazgos concuerdan con los reportados por Alvis et al. (2012), quienes cuantificaron un contenido fenólico de 404,4 mg GAE/L en extractos etanólicos de *Aloysia citrodora*, una planta de la misma familia. En cuanto al extracto de menta (2.182,42 mg GAE/L), su alta concentración de fenoles se explica por la presencia de compuestos como la eriocitrina (un flavonoide) y el ácido rosmarínico, documentado por Rubio et al., (2021). Asimismo, los resultados obtenidos se ven respaldados por el estudio de Biltekin et al. (2023), en el que se señala que extractos de menta y otras hierbas aromáticas presentan concentraciones fenólicas superiores a 2.000 mg GAE/L. Por otro lado, el extracto de ortiga ($1.236,26 \pm 70,48$ mg GAE/L) mostró el menor contenido fenólico en comparación con la hierbaluisa y la menta. Este resultado es consistente con lo reportado por Mariño Manzano (2023), quien identificó en extractos etanólicos de ortiga compuestos como rutina, ácido sinápico quercetina, kaempferol, cafeico y clorogénico, con un contenido polifenólico significativamente menor ($87,84 \pm 2,83$ mg GAE/g).

3.1.2 Capacidad antioxidante y fenólicos totales de barras.

Los resultados de la Tabla 3 demuestran una relación directamente proporcional y estadísticamente significativa entre la concentración de los extractos vegetales y el contenido de polifenoles en las barras. El grupo control, sin extractos, presenta el menor valor (50,32 mg GAE/50g), mientras que la formulación con la mayor dosis (Barra 50) alcanza 110,50 mg GAE/50g. Adicional se indica los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante de las barras proteicas enriquecidas con extractos expresados como mg de Trolox/50 g muestra.

Tabla 3. Capacidad antioxidante y fenólicos totales en barras enriquecidas

Tratamiento	mg GAE/50g muestra	mg Trolox /50 g muestra
Barra control	$50,32 \pm 3,38$ C	$447,86 \pm 7,46$ B
Barra 12,5	$57,74 \pm 4,66$ C	$429,4 \pm 37,2$ B
Barra 25	$73,57 \pm 8,67$ B	$480,64 \pm 8,63$ AB
Barra 50	$110,50 \pm 9,04$ A	$502,77 \pm 6,52$ A

Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar de los análisis por triplicado. Los valores con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En la investigación de AlJaloudi (2024), indico un aumento en polifenoles al añadir ingredientes funcionales (altramuz y germen de trigo) a sus barras. En el caso de la barra de control de AlJaloudi tenía un contenido fenólico de 13,59 mg GAE/100 g (equivalente a 6,8 mg GAE/50g), la barra control de este estudio presenta un valor considerablemente mayor de

50,32 mg AG/50g. En este contexto los valores que obtuvimos en el tratamiento al 50% son, además, superiores a los reportados en otras investigaciones. Por ejemplo, Gutiérrez-Grijalva et al. (2020) obtuvieron un valor de 98,6 mg GAE/100 g usando extracto de Menta, y Valková et al. (2022) alcanzo 85 mg GAE/100 g con hierbaluisa. Adicional los resultados de Krawecka et al. (2021) con pasta enriquecida con ortiga (entre 65 y 89 mg GAE/100 g) presentaron valores menores que los nuestros. Esto demuestra que la combinación de los tres extractos y la alta concentración utilizada en nuestro estudio fueron particularmente efectivas para maximizar el contenido de polifenoles.

Los resultados de la actividad antioxidante evaluada por el método DPPH (Tabla 3) mostraron diferencias entre los tratamientos. La barra enriquecida al 50% presentó el mayor valor de actividad antioxidante ($502,77 \pm 6,52$ mg Trolox/50 g muestra), seguida por la barra al 25% ($480,64 \pm 8,63$ mg Trolox/50 g), ambas superiores estadísticamente a la barra control ($447,86 \pm 7,46$ mg Trolox/50 g). Estos resultados sugieren que la incorporación de extractos en concentraciones más altas mejora la capacidad antioxidante del producto, debido a una mayor presencia de compuestos fenólicos.

Si bien existen diferencias metodológicas que dificultan la comparación directa, es pertinente resaltar el valor de nuestros resultados en contraste con reportes previos. Por ejemplo, AlJaloudi et al. (2024) obtuvieron valores notablemente superiores (57 ± 33 mg Trolox/g) en barras con múltiples ingredientes funcionales. Esta diferencia no invalida nuestros hallazgos, sino que enriquece el análisis: mientras nuestro estudio demuestra el efecto específico y dosis dependiente de extracto, investigaciones como la citada evidencian el efecto sinérgico de combinar diversas fuentes antioxidantes. Ambos enfoques resultan valiosos para la ciencia de alimentos, ya que instruyen estrategias complementarias para el desarrollo de productos funcionales.

3.2 Evaluación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*.

Los resultados de inhibición de óxido nítrico (NO) en extractos de hierbaluisa, menta, ortiga y barras (control; 12,5; 25 y 50%) a diferentes concentraciones (100 mg/mL, 50 mg/mL y 25 mg/mL) se indica en Tabla 4.

Tabla 4. Inhibición de la producción de óxido nítrico (%) en macrófagos tratados con diferentes concentraciones de muestras

Tratamiento	Concentración de muestra (mg/ml)		
	100	50	25
Extracto hierbaluisa	87,03 ± 21,87 ^a	8,55 ± 2,38 ^b	3,82 ± 1,92 ^b
Extracto menta	79,70 ± 25,08 ^a	46,91 ± 9,53 ^a	50,73 ± 10,30 ^a
Extracto ortiga	6,79 ± 3,84 ^b	2,48 ± 1,65 ^b	0,36 ± 1,75 ^b
Barra control	19,27 ± 4,77 ^b	23,82 ± 5,48 ^a	23,45 ± 9,23 ^a
Barra 12,5	22,85 ± 7,65 ^b	25,33 ± 7,74 ^a	22,18 ± 5,29 ^a
Barra 25	27,45 ± 10,35 ^b	24,24 ± 4,95 ^a	28,97 ± 7,39 ^a
Barra 50	83,8 ± 9,06 ^a	25,39 ± 11,35 ^a	33,39 ± 5,67 ^a

Los resultados se expresan como media ± desviación estándar de los análisis por triplicado. Los valores con letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Las comparaciones se realizan de forma vertical (entre muestras) para cada dosis.

La actividad antiinflamatoria de los extractos de hierbaluisa, menta y ortiga evaluados por el ensayo de inhibición de NO reveló una relación dependiente entre la especie vegetal y la concentración del extracto. A una concentración más alta (100 mg/mL), los extractos de hierbaluisa (87,03 ± 21,87%) y menta (79,70 ± 25,08%) exhibieron la mayor capacidad inhibitoria, superior al extracto de ortiga (6,79 ± 3,84%).

Al reducir la concentración a 50 mg/mL y 25 mg/mL, se observó un patrón distintivo para cada extracto. El de hierbaluisa mostró una potente actividad inhibitoria altamente dependiente de la dosis, con una eficacia que disminuyó drásticamente (de 87,03% a 8,55% y 3,82%, respectivamente) conforme se redujo la concentración. Por el contrario, el extracto de menta demostró una inhibición similar, en todas las concentraciones (46,91% a 50 mg/mL y 50,73% a 25 mg/mL). Finalmente, el extracto de ortiga mostró una actividad inhibitoria baja en todas las concentraciones probadas (0,36% - 6,79%).

El resultado obtenido en el caso de la hierbaluisa, el cual presentó una inhibición del 87.03 ± 21.87% a la concentración de 100 mg/mL, puede atribuirse a un incremento en la concentración y biodisponibilidad de sus metabolitos secundarios en solución. Este comportamiento concuerda con lo documentado por Yu et al. (2021), quienes establecieron una correlación positiva entre la concentración de polifenoles en extractos vegetales y su potencia inhibitoria. En el caso del extracto de la menta, incluso a bajas concentraciones, puede

atribuirse a su alto contenido de mentol y mono terpenos, conocidos por sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Rodríguez et al., 2023). Así mismo la baja actividad del extracto de ortiga podría deberse a su perfil fitoquímico específico, dominado por ácidos fenólicos y lignanos, cuyos mecanismos de acción pueden ser menos efectivos para inhibir directamente la producción de NO en este modelo (Kumar et al., 2020).

La incorporación de los extractos en las barras proteicas modificó el perfil de inhibición observado con los extractos puros. A 100 mg/mL, la barra 50% mostró una inhibición significativamente mayor ($83.8 \pm 9.06\%$) que las barras control, 12,5% y 25%. Este resultado nos mostró que una alta concentración de extracto en la barra es capaz de conferir una potente actividad antiinflamatoria *in vitro*. Sin embargo, a concentraciones menores (50 y 25 mg/mL), no se observaron diferencias significativas en la inhibición de NO entre ninguna de las formulaciones de barras, incluido la barra control; esto nos indicó que la matriz de la barra proteica por sí misma posee un efecto antiinflamatorio intrínseco y significativo, posiblemente atribuible a su formulación. Este efecto de la barra enmascara o satura la respuesta a las concentraciones más bajas de los extractos añadidos (12,5% y 25%), haciendo indistinguible su contribución adicional a la actividad.

3.3 Perfil de textura y color de las barras enriquecidas

Los análisis fisicoquímicos revelaron que la concentración de los extractos de hierbaluisa, menta y ortiga ejerció una influencia significativa tanto en la textura como en el color de las barras proteicas. En cuanto a la dureza, se registró un incremento progresivo y estadísticamente significativo ($p < 0.05$) directamente proporcional a la concentración del extracto, siendo los tratamientos al 25% y 50% notablemente más duros que el tratamiento al 12,5% y el control. De forma paralela, los parámetros colorimétricos (L^* , a^* , b^*) también mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos, confirmando que una mayor concentración de extracto modifica sustancialmente las propiedades visuales del producto, como se detalla en la Tabla 5.

Tabla 5. Perfil de textura y color de barras enriquecidas.

Tratamiento	Dureza (N)	Superficie			Base		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*
Barra control	26,88 ± 1,03 D	55,87 ± 0,25 A	16,77 ± 0,23 A	29,50 ± 0,26 B	60,43 ± 0,92 A	12,80 ± 0,78 A	25,93 ± 0,65 A
Barra 12,5	40,07 ± 4,20 C	46,80 ± 1,13 B	15,30 ± 1,51 AB	26,67 ± 0,90 A	53,30 ± 0,70 B	11,20 ± 0,40 B	25,03 ± 0,40 A
Barra 25	56,48 ± 6,06 B	46,23 ± 0,40 B	12,03 ± 1,63 B	26,83 ± 2,38 A	52,10 ± 0,72 B	9,47 ± 0,51 C	27,70 ± 0,85 A
Barra 50	77,90 ± 5,06 A	46,27 ± 0,49 B	8,50 ± 1,87 C	27,13 ± 5,13 A	49,80 ± 2,43 B	8,43 ± 0,57 C	26,23 ± 1,99 A

Valores expresados como media ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Los resultados obtenidos demuestran que la dureza de las barras aumento de forma directamente proporcional a la dosis de los extractos usados, sugiriendo que los compuestos bioactivos interactúan con la matriz proteica modificando su estructura. Este hallazgo puede atribuirse al establecimiento de enlaces e interacciones moleculares que modifican la conformación estructural de las proteínas, resultando en una red macromolecular más cohesiva y rígida. Dicho reforzamiento estructural, reportado previamente por Liu et al. (2021) con polifenoles, se manifiesta como un aumento significativo de la firmeza.. Si bien la barra al 50% mostró la mayor dureza ($77,90 \pm 5,06$ N), este valor supera el rango óptimo de 20-50 N sugerido por Castro Cívico (2024) y Małeckı (2022) para productos de buena aceptabilidad sensorial. Las barras con 12,5% y 25% de extracto presentaron valores de dureza más adecuados ($40,07 \pm 4,20$ N y $56,48 \pm 6,06$ N), valores similares a los reportados en estudios previos para formulaciones comparables (Castro et al., 2024; Małeckı et al.,2022). Estos resultados mostraron que concentraciones moderadas de extractos ($\leq 25\%$) figuran un equilibrio entre el enriquecimiento fitoquímico y las características texturales deseables, mientras que concentraciones superiores podrían comprometer la calidad sensorial del producto, como lo advierte Koli et al. (2022).

Respecto al color, la adición de extractos modifico significativamente los parámetros colorimétricos. La luminosidad (L*): Los resultados nos indican que la barra control presento la mayor luminosidad tanto en superficie ($55,87 \pm 0,25$) como en la base ($60,43 \pm 0,92$), lo que nos indica una apariencia más clara. En contraste, las barras con extractos (12,5%, 25%, 50%) mostraron una disminución de la luminosidad con valores que oscilaron entre $46,23 \pm 0,40$ y

46,80 ± 1,13 en superficie y entre 52,10 ± 0,72 y 53,30 ± 0,70 en base. Estos resultados nos indican que la adición de extractos fitoquímicos reduce la luminosidad tanto en la superficie como en la base de los tratamientos de las barras debido a la presencia de compuestos pigmentados en los extractos, este hallazgo es consistente con lo reportado por Yu et al. (2021), quien reporta que al añadir extractos de plantas modifica el color de la matriz alimentaria, adicional el estudio de Yousefian et al. (2023), observaron que la incorporación de extractos vegetales en alimentos proteicos reduce la luminosidad y modifica los componentes de color. Castromonte et al. (2020) reportaron que la incorporación de extractos fitoquímicos generó una disminución en la luminosidad de productos alimentarios, con valores de L* entre 44,5 y 50,2 en matrices proteicas. También, fue documentado por Espinal (2023), quien reportó valores de L* entre 45,2 y 52,8 en barras proteicas con harina de grillo y extracto de moringa, confirmando la tendencia a la reducción de claridad en presencia de ingredientes funcionales.

Componente (a*): Se muestra una disminución del valor de a* al aumentar la concentración de los extractos. La barra control presentó los valores más altos (superficie 16,77 ± 0,23, base 12,80 ± 0,78), mientras que el tratamiento con concentración 50% de extracto mostró valores más bajos (superficie 8,50 ± 1,87, base 8,43 ± 0,57). Este declive sugiere una pérdida de tonalidad rojiza, posiblemente por la interferencia de pigmentos verdes como clorofilas o compuestos fenólicos. Gasaly et al. (2020) explican que los fitoquímicos pueden modular el color desplazando los tonos cálidos hacia gamas más neutras o frías. En contraste, Espinal (2023) observó un incremento en a* en barras con moringa, alcanzando valores de hasta 14,3; lo que indica que el tipo de extracto vegetal influye de manera diferenciada en la expresión cromática.

Componente (b*): Los resultados de superficie nos indican que la barra control presentó el valor más alto (29,50 ± 0,26) de b* indicando una tonalidad más amarilla en comparación con las barras de 12,5; 25 y 50%, que mostraron valores significativamente menores de b*, lo que nos indicó una reducción en la intensidad del color amarillo esto debido a la presencia de pigmentos en los extractos. En el caso de los resultados de base no se observaron diferencias significativas en el componente b* (amarillo azul) entre las barras control; 12,5; 25 y 50%, lo que nos sugiere que los extractos fitoquímicos no afectaron significativamente este parámetro. Este efecto puede explicarse por la presencia de pigmentos oscuros en los extractos, que interfieren con la expresión de tonos amarillos. En el estudio de Álvarez (2021) reportó que barras proteicas con harina de grillo mostraron una disminución en b* conforme aumentaba la concentración de insecto, con valores entre 24,8 y 27,1, lo que coincide con los resultados obtenidos en este

trabajo.

4. Conclusiones

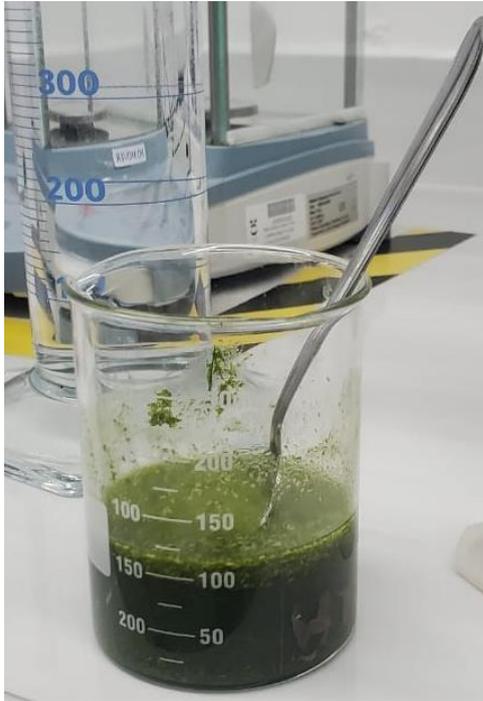
Los resultados demuestran el cumplimiento del objetivo general, verificando que las barras proteicas enriquecidas con extractos de hierbaluisa, menta y ortiga poseen una capacidad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* significativa y dependiente de la concentración. La evaluación de los extractos puros identificó a la hierbaluisa como la especie más potente, al presentar los valores más altos de actividad antioxidante (1,169.07 mmol Trolox/mL), como en contenido de polifenoles totales ($2.307,98 \pm 84,75$ mg AG/L) y de inhibición de óxido nítrico (87.03% a 100 mg/mL). Al ser incorporada en la matriz alimentaria, la barra proteica con 50% de extractos exhibió la mayor bioactividad total. No obstante, el análisis fisicoquímico reveló que esta concentración genera una dureza (77.90 N) la sitúa fuera del rango óptimo de textura para consumo directo.. Por lo tanto, se concluye que la barra proteica con dosis de extracto del 25% de que aprovecha el potencial de la hierbaluisa como ingrediente clave constituye la formulación óptima, al lograr un equilibrio entre una bioactividad significativa (480.64 mg Trolox/50g y 56.48 N de dureza) y características tecno funcionales deseables, posicionándose como la alternativa más viable para el desarrollo de un alimento funcional efectivo y compatibles con los estándares de calidad para alimentos funcionales.

Los resultados de este estudio defienden el potencial de los extractos de hierbaluisa, menta y ortiga como ingredientes funcionales en la industria alimentaria. Su incorporación en barras proteicas no solo aumenta su capacidad antioxidante y antiinflamatoria, sino que también podría contribuir a la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo y la inflamación crónica. Estos hallazgos abren nuevas vías para el desarrollo de alimentos funcionales destinados a la nutrición deportiva y la mejora de la salud en general.

5. Recomendaciones

Para la industria alimentaria, se recomienda priorizar el desarrollo de la barra con 25% de extractos como formulación óptima, dado su equilibrio entre bioactividad y aceptabilidad tecnológica. Es primordial implementar protocolos de estandarización del perfil fitoquímico de la hierbaluisa que se identificó como el ingrediente clave y desarrollar estrategias de enmascaramiento sensorial que contrarresten el color oscuro característicos de los extractos, garantizando así la viabilidad comercial del producto.

Para futuras investigaciones, se sugiere profundizar en estudios *in vivo* que validen la biodisponibilidad y efectos fisiológicos de los compuestos bioactivos, complementados con la especificación de sus mecanismos de acción molecular. Paralelamente, se recomienda explorar estrategias de microencapsulación para optimizar la liberación y estabilidad de los principios activos, así como evaluar sinergias con otros ingredientes funcionales que permitan potenciar el perfil saludable del alimento desarrollado.



Anexo 5. Preparación de extractos etanólicos



Anexo 6. Filtración de macerado de extractos



Anexo 7. Concentrador al vacío con extractos filtrados.



Anexo 8. Extractos etanólicos de hierbaluisa, menta y ortiga.

	
<p>Anexo 9. Liofilizador</p>	<p>Anexo 10. Liofilizados de extractos y muestras digeridas congeladas</p>
	
<p>Anexo 11. Liofilizado de barras proteicas.</p>	<p>Anexo 12. Pesaje de muestra para su respectivo análisis.</p>
	
<p>Anexo 13. Soluciones enzimáticas.</p>	<p>Anexo 14. Suero bovino</p>



Anexo 15. Evaluación de la actividad antiinflamatoria *in vitro*



Anexo. Colorímetro

4. Bibliografía:

Aguilar, M. S. E., Miano, A. C., Obregón, J., Barraza-Jáuregui, G., & Siche, R. (2020). Energy bars based on quinoa, kiwicha and chia: Textural, acoustic and sensory characteristics. Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology. <https://doi.org/10.18687/LACCEI2020.1.1.377>

AlJaloudi, R., Al-Dabbas, M. M., Hamad, H. J., Amara, R. A., Al-Bashabsheh, Z., Abughoush, M., Choudhury, I. H., Al-Nawasrah, B. A., & Iqbal, S. (2024). Development and characterization of high-energy protein bars with enhanced antioxidant, chemical, nutritional, physical, and sensory properties. *Foods*, 13(2), 259. <https://doi.org/10.3390/foods13020259>

Alvis, A., Martínez, W., & Arrazola, G. (2012). Obtención de extractos hidro-alcohólicos de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. *Información Tecnológica*, 23(2), 3-10

Álvarez Miguel, A. (2018). Desarrollo y evaluación de barritas con alto contenido proteico con incorporación de harina de grillo. <https://riunet.upv.es/handle/10251/114966>

Athanasiadis, V., Chatzimitakos, T., Makrygiannis, I., Kalompatsios, D., Bozinou, E. y Lalas, SI (2024). Extractos ricos en antioxidantes de hojas de hierbaluisa (*Aloysia citrodora* L.) mediante la metodología de superficie de respuesta. *Oxígeno* 4 (1), 1-19. <https://doi.org/10.3390/oxygen4010001>

Biltekin, S. N., Karadağ, A. E., Demirci, F., & Demirci, B. (2023). In Vitro Anti-Inflammatory and Anticancer Evaluation of *Mentha spicata* L. and *Matricaria chamomilla* L. Essential Oils. *ACS Omega*, 8(19), 17143–17150. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01501>

Buitimea-Cantúa, N. E., Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., del Refugio Rocha-Pizaña, M., de la Rosa-Millán, J., & Torres-Chávez, P. I. (2020). Protein-phenolic aggregates with antiinflammatory activity recovered from maize nixtamalization wastewaters (nejayote). *LWT*, 134. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109881>

Castro Civico, D. R. (2024). Propiedades sensoriales, texturales, fisicoquímicas y antioxidantes de una barra nutricional formulada con ingredientes no convencionales. Universidad Nacional Agraria de la Selva. <https://doi.org/10.36995/unas.2024.120874>

Castromonte, Mary, Wacyk, Jurij, & Valenzuela, Carolina. (2020). Encapsulación de extractos antioxidantes desde sub-productos agroindustriales: una revisión. *Revista chilena de nutrición*, 47(5), 836-847. <https://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182020000500836>

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2021). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols, and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>

Culqui, H. H., Zumaeta, C. R. B., Quintana, S. G. C., & Silva, E. A. A. (2020). Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 3(2), 9-15.

De, F., Consolini, A. E., Inés, M., Germán, R., & Colareda, A. (n.d.). *Fitoterapia Farmacología experimental y clínica de plantas medicinales Libros de Cátedra*.

Delgado Maldonado, S. A., & Ortiz Tobar, D. P. (2022). Estado del arte de las propiedades nutricionales y funcionales de *Ganoderma Lucidum*. *Revista Mutis*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.21789/22561498.1871>

Devkota, H. P., Paudel, K. R., Khanal, S., Baral, A., Panth, N., Adhikari-Devkota, A., ... & Hansbro, P. M. (2022). Stinging nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional composition, bioactive compounds, and food functional properties. *Molecules*, 27(16), 5219

Dorantes-Salazar, E. L., Báez-González, J. G., Gastelúm-Martínez, É., Morales-Landa, J. L., & García-Marquez, E. (2023). Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 643-649.

El Menyiy, N., Mrabti, H. N., El Omari, N., Bakili, A. E., Bakrim, S., Mekkaoui, M., ... & Bouyahya, A. (2022). Medicinal uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Mentha*

spicata. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022(1), 7990508.

Enríquez, M., Arboleda, L., Salous, A., & Torres, S. (2023). Biological activity of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and its applications in industry. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (40), 10-10.

Espinal-Carrión, Tania, García-Sampedro, Gabriela Guadalupe, Domínguez-Rico, Sebastián Alberto, Ventura-Montes, Citlali Mahetsi, & Vázquez-Martínez, Adriana. (2023). Formulación de galletas fortificadas por sustitución parcial de harina de moringa y suero lácteo. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 73(1), 32-41. Epub 02 de septiembre de 2024. <https://doi.org/10.37527/2023.73.1.004>

Farouk Abdel-salam, F., Mohamed Ibrahim, R., & IK Ali, M. (2022). Formulation and Evaluation of High Energy-protein Bars as a Nutritional Supplement for Sports Athletics. *American Journal of Food Science and Technology*, 10(1), 53–65. <https://doi.org/10.12691/ajfst-10-1-8>

Flórez, M., Cazón, P., & Vázquez, M. (2022). Antioxidant extracts of nettle (*Urtica dioica*) leaves: evaluation of extraction techniques and solvents. *Molecules*, 27(18), 6015.

Guan, R., Van Le, Q., Yang, H., Zhang, D., Gu, H., Yang, Y., ... & Peng, W. (2021). A review of dietary phytochemicals and their relation to oxidative stress and human diseases. *Chemosphere*, 271, 129499.

Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. Á., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2, 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte medico (lima)*, 15(1), 57-60.

Koli, D. K., Rudra, S. G., Bhowmik, A., & Pabbi, S. (2022). Nutritional, functional, textural and sensory evaluation of Spirulina enriched green pasta: A potential dietary and health supplement. *Foods*, 11(7), 979.

Krawęcka, A., Sobota, A., Pankiewicz, U., Zielińska, E. y Zarzycki, P. (2021). Ortiga (*Urtica dioica* L.) como componente funcional en la producción de pasta de trigo duro: Impacto en la

composición química, el índice glucémico in vitro y las propiedades de calidad. *Molecules*, 26 (22), 6909. <https://doi.org/10.3390/molecules26226909>

Kregiel, D., Pawlikowska, E., & Antolak, H. (2018). *Urtica* spp.: Ordinary Plants with Extraordinary Properties. *Molecules* (Basel, Switzerland), 23(7), 1664. <https://doi.org/10.3390/molecules23071664>

Małecki, J., Terpiłowski, K., Nastaj, M., & Sołowiej, B. G. (2022). Physicochemical, nutritional, microstructural, surface and sensory properties of a model high-protein bars intended for athletes depending on the type of protein and syrup used. *International journal of environmental research and public health*, 19(7), 3923.

Marrassini, C., Saint Martin, E. M., Alonso, M. D. R., & Anesini, C. A. (2023). Vicenin-2 and vitexin participate in the in vitromodulation of the anti-inflammatory and antioxidant activities exerted by two *Urtica circularis* extracts.

Mariño Manzano, K. D. (2023). Determinación del efecto antioxidante y antimicrobiano de extractos de diferentes tipos de ortiga (*Urtica dioica*, *Urtica urens*, *Urtica leptophylla*, *Urera baccifera*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*.

Muñoz-Murillo, J. P., García-Mendoza, J. J., Arévalo-Reyes, L. E., & Cedeño-Cedeño, J. C. (2024). Galletas dulces con sustitución parcial de harina de trigo por polvo De cáscara de Pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 11(1), 18-30.

Nieman, D. C., Zwetsloot, K. A., Simonson, A. J., Hoyle, A. T., Wang, X., Nelson, H. K., ... & Guérin-Deremaux, L. (2020). Effects of whey and pea protein supplementation on post-eccentric exercise muscle damage: a randomized trial. *Nutrients*, 12(8), 2382.

Pilco, C. R. J., Cruz, S. S. G., Caizaguano, R. A. M., Morejón, I. B., & Sosa, A. J. V. (2023). Alimentos funcionales y su efecto en el control de la diabetes: Functional foods and their effect on diabetes control. *Latam: revista latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 4(1), 113.

Quintanilla-Licea, R., Rodríguez-Garza, N. E., Torres-Hernández, Á. D., Verde-Star, M. J., & Elizondo-Luévano, J. H. (2023). Actividad citotóxica, antioxidante y antihemolítica del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 957-964.

Rodriguez, J. C. R. (2015). Elaboración de bebidas funcionales a base de extractos herbales y su efecto en el control de la obesidad.

Salehi, M., Mashhadi, N. S., Esfahani, P. S., Feizi, A., Hadi, A., & Askari, G. (2021). The effects of curcumin supplementation on muscle damage, oxidative stress, and inflammatory markers in healthy females with moderate physical activity: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *International Journal of Preventive Medicine*, 12, 94.

Samtiya, M., Aluko, RE, Dhewa, T. y Moreno-Rojas, JM (2021). Posibles beneficios para la salud de los componentes bioactivos derivados de alimentos vegetales: Una visión general. *Foods*, 10 (4), 839.

Santibanez-Gutierrez, A., Fernandez-Landa, J., Calleja-Gonzalez, J., Delextrat, A., & Mielgo-Ayuso, J. (2022). Effects of probiotic supplementation on exercise with predominance of aerobic metabolism in trained population: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Nutrients*, 14(3), 622.

Tapia Sánchez, ES (2022). Caracterización de proteínas de flores de geranio (*Geranium*) y evaluación de su potencial como fuente de péptidos con capacidad antiinflamatoria durante la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Tkaczenko, H., & Kurhaluk, N. (2025). Antioxidant-Rich Functional Foods and Exercise: Unlocking Metabolic Health Through Nrf2 and Related Pathways. *International journal of molecular sciences*, 26(3), 1098. <https://doi.org/10.3390/ijms26031098>

Valková, V., Ďúranová, H., Galovičová, L., Borotová, P., Vukovic, N. L., Vukic, M., & Kačániová, M. (2022). *Cymbopogon citratus* essential oil: Its application as an antimicrobial agent in food preservation. *Agronomy*, 12(1), 155.

Yousefian, S., Esmaeili, F., & Lohrasebi, T. (2023). A comprehensive review of the key characteristics of the Genus *Mentha*, Natural compounds and Biotechnological approaches for the production of secondary metabolites. *Iranian Journal of Biotechnology*, 21(4), e3605.

Yu, M., Gouvinhas, I., Rocha, J., & Barros, A. I. (2021). Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. *Scientific reports*, 11(1), 10041.

