

Estabilización de antocianinas extraídas de jugo de granada usando arabinosilanos extraídos de un subproducto de la industria cervecera

Y. Jaguey-Hernández^{*1}, A. Castañeda-Ovando¹, E.P. Castañeda-Ovando¹, C. Tapia-Ignacio¹, E. Contreras-López¹ y L.G. Gonzalez-Olivares¹

¹ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Carr. Pachuca-Tulancingo km 4.5, 42186, Mineral de la Reforma, Hgo., México. *ovandoa@uaeh.edu.mx

RESUMEN

Actualmente, se busca el empleo de aditivos naturales en los alimentos, incluyendo los colorantes. Las frutas son una importante fuente de colorantes naturales como clorofilas, carotenoides, betalainas y antocianinas, sin embargo, una de sus mayores limitaciones es su estabilidad. En el presente trabajo se evaluó la adición de una fracción rica en arabinosilanos obtenida del bagazo de cebada de la industria cervecera (BSG-AX) sobre la estabilidad de antocianinas de jugo de granada (*Punica granatum*) mediante cinéticas de degradación. Se obtuvieron dos extractos de jugo de granada mediante liofilización, se estimó su contenido de antocianinas con el método de pH diferencial, se realizaron seis formulaciones de bebidas adicionando BSG-AX, evaluando la estabilidad de las antocianinas mediante medición del cambio de color (ΔE) a través de análisis digital. El contenido de antocianinas del extracto de jugo de granada se estimó en 115.66 ± 3.48 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g, las bebidas formuladas se almacenaron a 4°C por 49 días. Las bebidas adicionadas con BSG-AX presentaron menor cambio de color que las no adicionadas por lo que, se evidencia la utilidad de la BSG-AX como un aditivo alimentario para ser aplicado en la industria de alimentos como un estabilizador de color.

Palabras clave: Arabinosilanos, estabilización de color, granada, antocianinas.

ABSTRACT

Currently, the use of natural additives in food, including colorants, is being sought. Fruits are an important source of natural colorants such as chlorophylls, carotenoids, betalains and anthocyanins; however, one of their greatest limitations is their stability. In the present work, the addition of a fraction rich in arabinosylans obtained from barley bagasse from the brewing industry (BSG-AX) on the stability of anthocyanins from pomegranate juice (*Punica granatum*) was evaluated through degradation kinetics. Two extracts of pomegranate juice were obtained by lyophilization, their anthocyanin content was estimated with the differential pH method, six beverage formulations were made by adding BSG-AX, evaluating the stability of anthocyanins by measuring the color change (ΔE) through digital analysis. The anthocyanin content of the pomegranate juice extract was estimated at 115.66 ± 3.48 mg equivalents of cyanidin-3-glucoside/100 g, the beverages formulated were stored at 4°C for 49 days. The beverages added with BSG-AX presented less color change than those not added, therefore, the usefulness of BSG-AX as a food additive to be applied in the food industry as a color stabilizer is evidenced.

Key words: Arabinosylans, color stabilization, pomegranate, anthocyanins.

INTRODUCCIÓN

La recuperación de subproductos de la industria alimentaria ha cobrado relevancia, puesto que contienen compuestos de importante valor agregado, los cuales se pueden reingresar a la industria alimentaria. El bagazo de cebada (BSG) es un subproducto de la industria cervecera que es rico en polisacáridos y proteínas que pueden ser de gran utilidad para la aplicación en la fabricación de otros productos. A partir del BSG se puede obtener una fracción rica en arabinosilanos (BSG-AX), que son compuestos lignocelulósicos no tóxicos y fácilmente disponibles en la naturaleza; forman parte de la fibra dietética, y contienen compuestos fenólicos que son responsables de su potencial nutraceutico. Se ha demostrado que poseen gran potencial en la industria alimentaria por su efecto prebiótico, capacidad antioxidante (Erum et al., 2015; Chen et al., 2019), actividad antimicrobiana (Moreirinha et al., 2020) y su participación en la función inmunitaria (Erum et al., 2015).

Por otro lado, los aditivos de color son un pilar importante en la industria alimentaria, ya que mejoran el aspecto de algunos productos. De manera general, los colorantes artificiales tienen un menor costo y mejor estabilidad que los naturales, sin embargo, cada vez más los consumidores prefieren alimentos naturales lo que ha promovido el uso de colorantes naturales. En este sentido, las frutas son una excelente fuente de compuestos naturales que permiten una amplia gama de colorantes como clorofilas, carotenoides, betalainas y antocianinas que, además de su capacidad colorante presentan propiedades bioactivas (Albuquerque et al., 2021). Sin embargo, la aplicación de colorantes naturales continúa en desarrollo puesto que presentan problemas de estabilidad, para superar estas limitaciones se han estudiado otros compuestos naturales que permitan su estabilización.

Uno de los principales colorantes naturales son las antocianinas. Estos compuestos son visibles al ojo humano, se les atribuye los colores rojo-azul-morado en la naturaleza, son los más solubles en agua (Nguyen et al., 2018) y, tienen propiedades antioxidantes (Castañeda-Ovando et al., 2009; Fang, 2014). Una de las fuentes principales de antocianinas es la granada (*Punica granatum*), la cual se consume como fruta fresca, jugo, en mermeladas y suplementos nutricionales. La parte comestible de la granada (arilo) es una fuente rica en antocianinas, variando su concentración entre 29.9-73.2% del total de compuestos fenólicos en el jugo (Zhao & Yuan, 2021), esta abundancia de antocianinas con elevada capacidad antioxidante permite que este compuesto sea utilizado como pigmento natural en bebidas.

Sin embargo, la estabilidad de las antocianinas se ve afectada por factores como: pH, temperatura, estructura química, en la que el aumento de la hidroxilación del anillo heterocíclico se asocia con una estabilidad disminuida (Fang, 2014), concentración, luz, oxígeno, solventes, presencia de enzimas, flavonoides, actividad de agua, proteínas, complejación con otros compuestos (Cortez et al., 2017) e iones metálicos (Olaya et al., 2009), lo que puede dar como resultado el desvanecimiento o modificación del color. Debido a que una de las principales limitaciones del empleo de las antocianinas aisladas como colorantes naturales es su inestabilidad y susceptibilidad a la degradación, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la adición de BSG-AX sobre la estabilidad del color de antocianinas mediante cinéticas de degradación, con la finalidad de utilizar esta mezcla en la elaboración de bebidas no alcohólicas sin la adición de colorantes sintéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del extracto de granada. El extracto de granada se obtuvo a partir de *Punica granatum* (granada variedad roja) cultivadas en el municipio de Tasquillo, Hidalgo. Se preparó jugo por prensado y posteriormente se congeló a -35°C y se liofilizó en un equipo Freezone 4.5 (Labconco, USA) a -47°C y 133×10^{-3} mbar durante 48 h. Se prepararon dos fracciones de extracto de jugo de granada, la primera

se obtuvo como extracto sólido liofilizado (ESL) y la segunda, extracto líquido (EL) que se recuperó solubilizando el extracto restante rico en azúcares.

Determinación del contenido de antocianinas monoméricas totales. El contenido total de antocianinas monoméricas se determinó mediante el método de pH diferencial (Lee et al., 2005). Se tomaron dos alícuotas de 300 μL de cada extracto (ESL y EL) y se transfirieron a matraces volumétricos de 10 mL, una de ellas se aforó con solución de KCl (0.25 mol L^{-1} pH 1) y la otra con buffer de acetatos (1 mol L^{-1} pH 4.5). Para cada solución se midió la absorbancia a 515 y a 700 nm en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific Genesys 10S (USA) UV-Vis y en una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico. La determinación se realizó por triplicado. Los resultados se expresaron como Cy-3-glc, debido a que es la antocianina más ampliamente distribuida. Los cálculos se realizaron utilizando las ecuaciones 1 y 2, respectivamente.

$$AM(\text{mgL}^{-1}) = \frac{A \times MW \times FD \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

donde:

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}1} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}4.5} \quad (2)$$

AM= antocianinas monoméricas; MW= peso molecular de la antocianina más común (Cy-3-glc, PM= 449 g mol^{-1}); FD= Factor de dilución; ϵ = coeficiente de absortividad molar de la antocianina más común (Cy-3-glc, $\epsilon_{515 \text{ nm}}=26 \ 900 \text{ cm}^{-1}\text{mol}^{-1} \text{ L}$ a pH 1.0); l = longitud de paso óptico (1 cm).

Preparación de una bebida de granada estabilizada con BSG-AX. Con la finalidad de evaluar el efecto de la adición de la BSG-AX sobre la estabilidad de antocianinas, se prepararon seis formulaciones diferentes (Tabla 1). Cada una de ellas se llevó a un volumen final de 50 mL con agua purificada y se les adicionó 1.2 % (m/v) de ácido cítrico para acidificar el medio, ya que el color rojo de las antocianinas se favorece a un pH ácido. Las formulaciones se prepararon por triplicado.

Tabla I. Formulaciones para evaluar la estabilidad de antocianinas por la interacción con BSG-AX.

Formulación	Extracto	Cantidad de extracto	BSG-AX, % (m/v)
1	ESL	5 g	0
2	ESL	5 g	4
3	ESL	5 g	5
4	EL	5 mL	0
5	EL	5 mL	4
6	EL	5 mL	5

ESL: extracto sólido liofilizado, EL: extracto líquido, BSG-AX: fracción rica en arabinosilanos extraídos de bagazo de cebada.

El estudio cinético se realizó a 4°C , para ello, las formulaciones se mantuvieron en refrigeración y oscuridad (para evitar la degradación de las antocianinas). Para evaluar el efecto de la adición de BSG-AX sobre la estabilidad de las antocianinas del extracto de jugo granada, se determinó el contenido de antocianinas monoméricas en las bebidas por 49 días realizando mediciones cada siete días. De igual manera, se realizaron medidas de color mediante el sistema CIE $L, a^* b^*$, las medidas de color se

obtuvieron dentro de una cámara blanca con luz blanca fría. Una vez tomada la imagen y mediante el análisis digital, utilizando la aplicación Colorgraph[®], se obtuvieron los parámetros L , a^* , b^* , a partir de éstos se usó la aplicación colorTool[®] para obtener ΔE .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido inicial de antocianinas monoméricas. El contenido de antocianinas monoméricas en los extractos de granada utilizados para la preparación de la bebida alcohólica fue de 115.66 ± 3.48 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de extracto (base seca). Este valor es similar a lo reportado para frutas envejecidas de 138 mg/100 g (Hegazi et al., 2021) y muy superior al reportado para jugo de granada comercial en el que se informa de 1 mg/100 cm³, siendo la antocianina mayoritaria la cianidina-3,5-*O*-diglucósido (Khomich, Perova, & Eller, 2019). Al considerar que las antocianinas son buenos cromóforos, el contenido obtenido es suficiente para utilizar el extracto como aditivo de color.

Efecto de la adición de la BSG-AX en la estabilización de color en una bebida con extracto de granada.

Se evaluó el efecto de la adición de la BSG-AX en la intensidad de color inicial y la cinética de color durante el almacenamiento durante 49 días. En la Fig. 1 se presentan los colores iniciales obtenidos para diferentes soluciones, en las que se mantuvo constante la cantidad de extracto de granada (ESL y EL, 10% *m/v* o *v/v* respectivamente), con la finalidad de evaluar el efecto del tipo de extracto con la adición de ácido cítrico y BSG-AX.

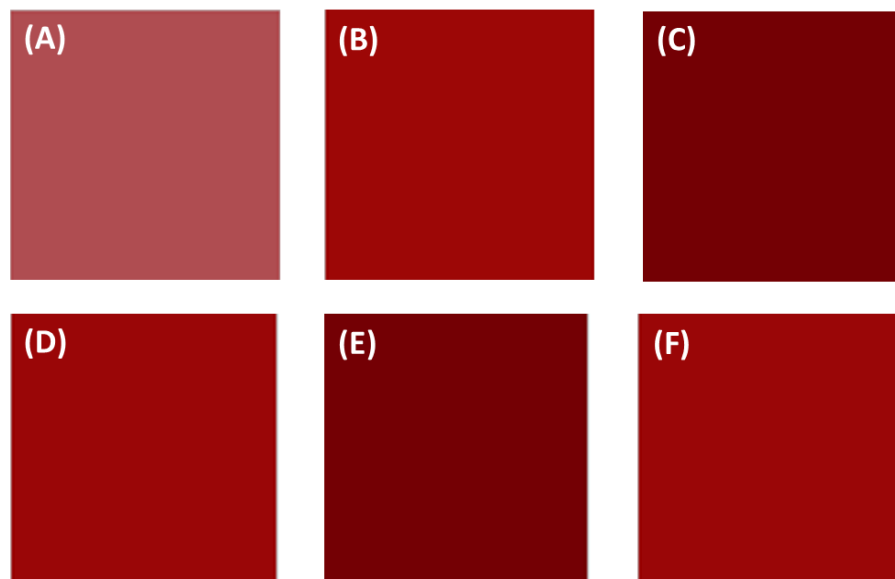


Figura 1. Color inicial de los extractos. (A) ESL en agua, (B) ESL en ácido cítrico, (C) EL en ácido cítrico (D) ESL con BSG-AX (4%) y ácido cítrico, (E) EL con BSG-AX y ácido cítrico, (F) ESL con BSG-AX (5%) y ácido cítrico. En todos los casos se adicionó el ácido cítrico al 1.2%

Al comparar el color del ESL en agua (Fig. 1A) con ESL en ácido cítrico al 1.2% (Fig. 1 (B) se puede observar a simple vista un importante cambio de color, mostrando que, la adición del ácido cítrico tiene un efecto positivo aumentando la intensidad del color. Este efecto se debe a que, las antocianinas son

más estables en soluciones ácidas (pH 1-3) ya que, predomina la presencia de cationes flavilio (Fang, 2014; Cortez et al., 2017) responsables del color rojo.

En los parámetros de color del sistema CIE- $L a^* b^*$, L es la luminosidad (0 = negro y 100 = blanco), y a^* y b^* son las coordenadas cromáticas rectangulares ($+a$ = rojo y $-a$ = verde / $+b$ = amarillo y $-b$ = azul) (Moreirinha et al., 2020). De tal modo que, ESL en agua (Fig. 1 A) presenta mayor luminosidad, menor intensidad del color rojo y mayor presencia de amarillo comparado con ESL en ácido cítrico (Fig. 1 B).

Mientras que, el parámetro ΔE es utilizado para determinar la diferencia de color entre dos muestras, es decir, mide el cambio en la percepción que el ojo humano tiene para detectar la diferencia de color, sus valores varían de 0 a 100, en los que valores ≤ 1 indican que el cambio no es perceptible al ojo humano; 1-2 el cambio es perceptible a través de una observación cercana; 2-10, perceptible de un vistazo, 11-49, los colores son más parecidos que los opuestos, y un valor de 100 muestra que los colores son exactamente opuestos (Mokrzycki & Tatol, 2011; Berns, 2019). El valor de ΔE obtenido para estas dos muestras, con el sistema CIE2000 fue de 16.2723, es decir, la diferencia de color es perceptible a simple vista.

Al comparar el color de ambos extractos (ESL y EL) en ácido cítrico (Fig. 1 B-C) se observa que, el ESL presenta mayor luminosidad, así como valores más elevados en a^* y b^* , con un ΔE de 8.2998, es decir, el cambio de color es perceptible con un vistazo;

Para evaluar el efecto de la adición de la BSG-AX, se comparó cada extracto en ácido cítrico sin BSG-AX con el adicionado con 4% de BSG-AX, de este modo, el ESL en ácido cítrico (Fig. 1 B) se comparó con el adicionado (Fig. 1 D), obteniendo un valor ΔE de 0.6291, diferencia de color imperceptible. Mientras que, en EL en ácido cítrico comparado con el adicionado con BSG-AX se observó un valor ΔE de 2.2969 que, aunque es superior, la diferencia de color requiere de una observación cercana. Con estos resultados se puede afirmar que la BSG-AX tiene un mayor efecto en la estabilización del color del EL (Fig. 1. E), esto se explica porque este extracto tiene mayor contenido de azúcares que pueden actuar como copigmentos y puede favorecer a las interacciones intramoleculares con los arabinosilanos de la BSG-AX, ocasionando un efecto batocrómico incrementando la coloración.

Finalmente, se evaluó el efecto de variar el contenido de BSG-AX comparando la adición de 4% y 5% de BSG-AX (Fig. 1 E yF, respectivamente), al compararlos, se obtuvo un valor ΔE de <0.6 , por lo que se concluye que, la diferencia en la cantidad de AXs no afecta inicialmente el color de la solución.

Cinéticas del cambio de color. Después de evaluar los efectos de cada uno de los factores (extracto, ácido cítrico y BSG-AX) sobre el color inicial de las soluciones, se prepararon 6 formulaciones (Tabla 1), se mantuvieron en refrigeración a 4°C protegidas de la luz durante 49 días. Se eligieron estas condiciones debido a que, la intensidad de la luz y la temperatura afectan la calidad de los compuestos beneficiosos para la salud (Zhao & Yuan, 2021) y entre ellos a las antocianinas. Cada 7 días se evaluó el cambio de color. En la Tabla 2 se presentan los valores L , a^* , b^* obtenidos, así como el color.

Es de notar que, al inicio de la cinética no se observó una importante diferencia de color entre las formulaciones adicionadas con BSG-AX, sin embargo, al pasar el tiempo se observa que estas bebidas adicionadas presentan una mayor estabilidad en el color (Fig. 2).

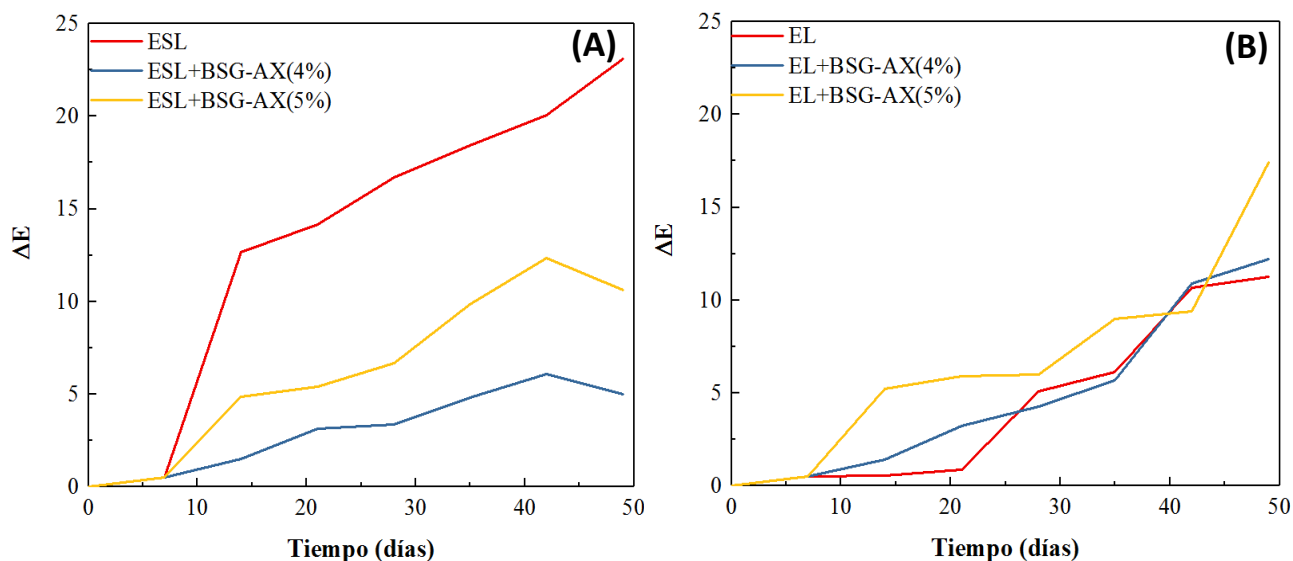


Figura 2. Cinética de color de las diferentes formulaciones realizadas con los extractos obtenidos adicionando BSG-AX a diferentes porcentajes. (A) ESL y (B) EL.

En el caso de las formulaciones realizadas con ESL, se puede observar que el control (sin BSG-AX) sufre un importante cambio de color, con aumento en la luminosidad y disminución de los parámetros a^* y b^* (Tabla 2), desde el inicio de la cinética hasta el día 29 se obtuvo un valor de ΔE de 23.09, es decir, el cambio es perceptible con sólo un vistazo. Mientras que, las formulaciones adicionadas con BSG-AX (Fig.2 A) presentan menor cambio de color durante el seguimiento, con mejores resultados al adicionar BSG-AX 4% comparado con 5%. Esta estabilidad se explica por la capacidad antioxidante del BSG-AX (Pérez-Flores et al., 2019) que podría conferir protección al ataque de radicales libres a las antocianinas.

De manera contraria, en las formulaciones realizadas con EL (Fig. 2 B) se observa un menor cambio de color en el control, sin adición de BSG-AX, y un mayor cambio con la adición de 5% de BSG-AX, sin embargo, al comparar los colores (Tabla 2), se puede notar que, aunque el cambio de color es mayor, se mantiene un color similar al inicial.

Tabla II. Variaciones de color de bebidas no alcohólicas formuladas con extracto de granada y adición de BSG-AX como estabilizante de color.

Parámetro	Día							Parámetro	Día						
	7	14	21	28	35	42	49		7	14	21	28	35	42	49
Formulación 1								Formulación 4							
L*	24.8	40.3	41.3	43	45.6	45.3	49.2	L*	19.6	19.1	20.5	25.4	24.6	33.4	33.2
a*	47.2	40.9	45.6	42.2	41	41.6	24.8	a*	41.2	40.6	42.3	47.6	57.0	48.3	54.9
b*	37.1	30.7	26.9	20.7	22.3	15.3	16.1	b*	30.0	29.3	31.4	37.4	36.8	30.0	42.2
Color								Color							
ΔE	-	12.65	14.15	16.72	18.44	20.08	23.09	ΔE	-	0.55	0.86	5.10	6.12	10.68	11.27
Formulación 2								Formulación 5							
L*	32.3	31.8	35.5	28.2	37.7	27.4	33.2	L*	26.0	24.4	30.6	21.3	29.0	14.1	28.0
a*	53.9	54.3	57.1	50.7	59	50.2	48.0	a*	48.6	46.7	52.3	43.1	38.0	34.8	40.7
b*	41.9	45.2	47.1	41.0	47.5	40.4	29.7	b*	38.7	36.5	40.9	32.0	26.1	22.1	13.9
Color								Color							
ΔE	-	1.50	3.16	3.35	4.83	6.10	5.02	ΔE	-	1.44	3.23	4.28	5.69	10.91	12.201
Formulación 3								Formulación 6							
L*	24.2	28.1	28.8	30.7	34.9	37.9	26.9	L*	31.9	32.3	24.2	26.0	27.6	19.2	19.6
a*	43.8	51.0	51.8	52.8	56.2	59.3	38.8	a*	41.0	53.9	43.8	48.6	39.2	38.6	41.2
b*	31.1	41.3	42.1	43.1	45.6	47.7	11.4	b*	28.8	41.9	31.1	38.7	13.8	26.1	30.0
Color								Color							
ΔE	-	4.89	5.43	6.68	9.85	12.36	10.64	ΔE	-	5.25	5.92	6.02	8.99	9.41	17.42

Esta mayor estabilidad observada en la formulación 4 (EL sin BSG-AX) puede explicarse por la presencia de azúcares que permiten una mayor estabilidad de las antocianinas por copigmentación, y que, al adicionar BSG-AX el color inicial puede modificarse debido a la presencia de compuestos presentes en la fracción rica en arabinosilanos, como la lignina que le confiere un color café claro (Jaguey-Hernández et al., 2022).

Estos resultados sugieren que la BSG-AX se puede utilizar como un estabilizante de color en bebidas no alcohólicas que contengan extractos de antocianinas sin importar la fuente (frutos rojos, flor de jamaica, algunos cereales, etc.), evitando la degradación de estas moléculas. Agregando a lo anterior, los arabinosilanos de la BSG-AX forman parte de la fibra dietética por lo que actúan como prebióticos, poseen actividad antioxidante (Erum et al., 2015; Chen et al., 2019), actividad antimicrobiana (Moreirinha et al., 2020) y su participación en la función inmunitaria (Erum et al., 2015), y algunos beneficios conocidos que incluyen la reducción del índice glicémico y los niveles de colesterol, la prevención de trastornos cardiovasculares y cáncer de colon, la mejora en la absorción de magnesio y calcio, así como otros beneficios a la salud (Shan et al., 2021).

CONCLUSIÓN

La adición de BSG-AX como estabilizador de antocianinas permite mantener su color rojo durante 49 días de seguimiento, evidenciando la utilidad de la BSG-AX como un aditivo alimentario natural como una alternativa al uso de aditivos artificiales que pueden causar un efecto nocivo a la salud. La BSG-AX puede ser utilizada en la industria alimentaria por ser seguro y poseer compuestos benéficos para la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque, B. R., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(5), 805-835. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1746904>
- Berns R. S. (2019) Numerical Color Specification: Colorimetry, In: *Billmeyer and Saltzman's Principles of color technology*. (pp. 51-84). John Wiley Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119367314.ch4>
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán - Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Chen, Z., Li, S., Fu, Y., Li, C., Chen, D., & Chen, H. (2019). Arabinoxylan structural characteristics, interaction with gut microbiota and potential health functions. *Journal of Functional Foods*, 54, 536-551. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.007>
- Cortez, R., Luna-Vital, D. A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 180–198. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12244>
- Erum, A., Bashir, S., Saghir, S., Tulain, U. R., Saleem, U., Nasir, M., Kanwal, F., & Hayat Malik, M. N. (2015). Acute toxicity studies of a novel excipient arabinoxylan isolated from Ispaghula (*Plantago ovata*) husk. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(3), 300–305. <https://doi.org/10.3109/01480545.2014.956219>
- Fang, J. (2014). Bioavailability of anthocyanins. *Drug Metabolism Reviews*, 46(4), 508–520. <https://doi.org/10.3109/03602532.2014.978080>
- Hegazi, N. M., El-Shamy, S., Fahmy, H., & Farag, M. A. (2021). Pomegranate juice as a super-food: A

- comprehensive review of its extraction, analysis, and quality assessment approaches. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97, 103773. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103773> Received 18 August 2020; Received in revised
- Jaguey-Hernández, Y., Tapia-Ignacio, C., Aguilar-Arteaga, K., González-Olivares, L. G., Castañeda-Ovando, E. P., Cruz-Cansino, N., Ojeda-Ramírez, D. & Castañeda-Ovando, A. (2022). Thermoplastic biofilms obtained from an arabinoxylan-rich fraction from brewers' spent grain: physicochemical characterization and thermal analysis. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-02288-x>
- Khomich, L. M., Perova, I. B., & Eller, K. I. (2019). Pomegranate juice nutritional profile. *Voprosy Pitaniia*, 88(5), 80-92. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10057
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Mokrzycki, W. S., & Tatol, M. (2011). Colour difference ΔE -A survey. *Machine Graphics & Vision International Journal* 20(4), 383-411.
- Moreirinha, C., Vilela, C., Silva, N. H., Pinto, R. J., Almeida, A., Rocha, M. A. M., Coelho, E., Coimbra, M. A., Silvestre, J. D., & Freire, C. S. (2020). Antioxidant and antimicrobial films based on brewers spent grain arabinoxylans, nanocellulose and feruloylated compounds for active packaging. *Food Hydrocolloids*, 108, 105836. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105836>
- Nguyen, T. T., Phan-Thi, H., Pham-Hoang, B. N., Ho, P. T., Tran, T. T. T., & Waché, Y. (2018). Encapsulation of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins as natural colours in yeast. *Food Research International*, 107, 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.044>
- Olaya, C. ., Castaño, M. ., & Garzón, G. . (2009). Stability of anthocyanins from *Rubus glaucus* and *Solanum betaceum* cav.dark-red strain as affected by temperature, storage and water activity. *Acta Biológica Colombiana*, 14(3), 143–158.
- Pérez-Flores, J. G., Contreras-López, E., Castañeda-Ovando, A., Pérez-Moreno, F., Aguilar-Arteaga, K., Álvarez-Romero, G. A., & Téllez-Jurado, A. (2019). Physicochemical characterization of an arabinoxylan-rich fraction from brewers' spent grain and its application as a release matrix for caffeine. *Food Research International*, 116, 1020-1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.041>
- Shah, A., Masoodi, F. A., Gani, A., Gani, A., Noor, N., & Fazli, A. (2021). Arabinoxylans. In, *Food biopolymers: Structural, functional and nutraceutical properties* (pp. 173-186). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27061-2_7
- Zhao, X., & Yuan, Z. (2021). Anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum* L.) and their role in antioxidant capacities in vitro. *Chemistry & Biodiversity*, 18(10), e2100399. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100399>