

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Obtención y caracterización antioxidante de extractos
hidroalcohólicos de comino, pimienta y tomillo.

Por:

JOSE EDUARDO MENDOZA TRUJILLO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México
junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Obtención y caracterización antioxidante de extractos
hidroalcohólicos de comino, pimienta y tomillo.

Por:

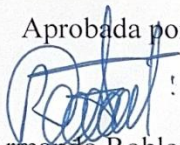
JOSE EDUARDO MENDOZA TRUJILLO

TESIS

Que se somete a la consideración del H. jurado examinador como
requisito para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprobada por:



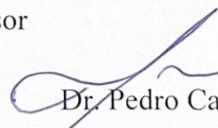
Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor principal



Dra. Ana Verónica Charles
Rodríguez
Coasesor



Dra. Dolores Gabriela Martínez
Vázquez



Dr. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo Coahuila.

junio de 2026

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

El suscrito **José Eduardo Mendoza Trujillo**, alumno del programa docente de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, con número de matrícula **41206152** y autor de la presente tesis manifiesta que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y que han sido incluidas en este trabajo, han sido debidamente citadas, reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación, de tal manera que no se ha incurrido en el "copiado y pegado" de dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos del autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo que la función y alcance de mi comité de asesoría está circunscrito a la orientación de guía respecto a la metodología de investigación realizada para el presente trabajo, así como el análisis e interpretación de los resultados obtenidos. Por lo tanto, eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico a mi comité de asesoría y acepto que cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

ATENTAMENTE



José Eduardo Mendoza Trujillo

Tesista

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), mi *Alma Mater*, por abrirme sus puertas, por formarme con orgullo como Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, y por brindarme todas las herramientas e instalaciones para mi desarrollo profesional.

A mi asesor de tesis, el Dr. Armando Robledo Olivo, por su paciencia, su guía técnica invaluable y por compartir su experiencia científica conmigo para llevar a buen término este proyecto de investigación.

A mis padres, Eduardo Mendoza Calderon y María Laura Trujillo Zavala. Este logro es tan suyo como mío. Gracias por su apoyo incondicional, por los grandes sacrificios que ambos han hecho para darme una educación, por sus consejos y por creer siempre en mí.

A mis hermanos y a toda mi familia, por ser mi motivación constante y mi red de apoyo en los momentos más pesados de la carrera.

A Alma Jimena Granillo Melo, por todo su apoyo, su paciencia y la ayuda fundamental que me brindó durante este proceso. Gracias por motivarme y por estar ahí cuando más lo necesité.

A mis amigos y compañeros de generación, con quienes compartí desveladas, prácticas de laboratorio y que hicieron de esta etapa universitaria una experiencia inolvidable.

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada con todo mi amor y profunda admiración a mis padres, Eduardo y María Laura. A través de su incansable esfuerzo conjunto, me brindaron no solo la vida, sino las herramientas y el coraje para alcanzar mis metas profesionales. Gracias por ser mi mayor inspiración, por su paciencia infinita y por respaldar mis sueños con un apoyo inquebrantable que me permitió llegar hasta este día. Todo lo que soy y lo que espero llegar a ser, se lo debo a ustedes.

A mis hermanos, por ser mis compañeros de vida. Gracias por hacer este viaje académico más ligero, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, y por brindarme su apoyo incondicional en cada etapa de este camino.

RESUMEN

El interés por sustituir los aditivos sintéticos ha impulsado la búsqueda de antioxidantes naturales. Este trabajo evaluó el perfil fisicoquímico y la capacidad antioxidante de extractos hidroalcohólicos (agua-etanol 1:1) de semilla de comino (*Cuminum cyminum*), fruto triturado de pimienta negra (*Piper nigrum*) y biomasa de tomillo (*Thymus vulgaris*, hojas y tallos), obtenidos mediante extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación. Se determinaron los sólidos solubles (°Brix), grado alcohólico, azúcares totales (fenol-sulfúrico), fenoles totales (Folin-Ciocalteu) y la capacidad de inhibición de radicales libres (DPPH y ABTS). Los extractos mostraron consistencia en sólidos solubles (20.4-20.6 °Brix) y un grado alcohólico residual de 80% (v/v). El extracto de comino presentó el mayor contenido de fenoles totales (0.37 mg EAG/g MS). En contraste, la pimienta exhibió la mayor capacidad antioxidante en el ensayo ABTS (9.65 mg TE/g MS) y DPPH (0.54 mg TE/g MS), lo que sugiere una recuperación eficiente de metabolitos con capacidad antioxidante. El tomillo reportó los valores bioactivos más bajos, lo cual se atribuye a la dilución fitoquímica generada por los tejidos de sostén lignificados (tallos). Se demuestra la viabilidad técnica de este proceso de extracción verde, destacando a la semilla de comino y al fruto de pimienta negra como ingredientes funcionales altamente prometedores para la industria alimentaria.

Palabras clave: Antioxidantes naturales, extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación, fenoles totales, matrices vegetales, DPPH, ABTS.

ABSTRACT

The desire to replace synthetic additives has driven the search for natural antioxidants. This study evaluated the physicochemical profile and antioxidant capacity of hydroalcoholic extracts (water-ethanol 1:1) of cumin seed (*Cuminum cyminum*), crushed black pepper fruit (*Piper nigrum*), and thyme biomass (*Thymus vulgaris*, leaves and stems), obtained by thermal hydroalcoholic extraction coupled with distillation. Soluble solids (°Brix), alcohol content, total sugars (phenol-sulfuric acid), total phenols (Folin-Ciocalteu), and free radical scavenging capacity (DPPH and ABTS) were determined. The extracts showed consistent soluble solids (20.4–20.6 °Brix) and a residual alcohol content of 80% (v/v). Cumin extract showed the highest total phenol content (0.37 mg GAE/g DM). In contrast, pepper exhibited the highest antioxidant capacity in the ABTS (9.65 mg TE/g DM) and DPPH (0.54 mg TE/g DM) assays, suggesting the efficient recovery of metabolites with antioxidant capacity. Thyme showed the lowest bioactive values, which is attributed to the phytochemical dilution caused by the lignified supporting tissues (stems). The technical feasibility of this green extraction process is demonstrated, highlighting cumin seed and black pepper fruit as highly promising functional ingredients for the food industry.

Keywords: Natural antioxidants, thermal hydroalcoholic extraction coupled with distillation, total phenols, plant matrices, DPPH, ABTS

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	10
II.	HIPÓTESIS	11
III.	OBJETIVOS.....	11
3.1	Objetivo general.....	12
3.2	Objetivos específicos.....	12
IV.	ANTECEDENTES.....	13
4.1	Antecedentes generales: antioxidantes y alimentos	13
4.2	Antioxidantes naturales de origen vegetal.....	13
4.3	Especies vegetales estudiadas.....	14
4.3.1	Comino (<i>Cuminum cyminum</i>)	14
4.3.2	Pimienta negra (<i>Piper nigrum</i>)	15
4.3.3	Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>).....	15
4.4	Extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación	16
4.5	Fenoles totales y métodos de evaluación antioxidante.....	17
4.6	Parámetros fisicoquímicos.....	18
4.7	Aplicación potencial de extractos vegetales en alimentos	18
4.8	Importancia de la evaluación técnico-económica preliminar ¡Error! Marcador no definido.	
4.9	Brecha de conocimiento e implicaciones del estudio	19
V.	METODOLOGÍA	21
5.1	Obtención y acondicionamiento del material vegetal.....	21
5.2	Preparación de los extractos hidroalcohólicos	22
5.3	Determinación de azúcares totales por el método de fenol-sulfúrico	23
5.4	Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ABTS	24
5.5	Evaluación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.....	25
5.6	Determinación del contenido de fenoles totales	26
5.7	Determinación de sólidos solubles totales (Grados Brix).....	27
5.8	Medición del grado alcohólico.....	28
5.9	Análisis estadísticos	29
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30

6.1	Parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares totales	30
6.2	Contenido de fenoles totales	31
6.3	Evaluación de la capacidad antioxidante (Ensayos ABTS y DPPH)	33
VII.	CONCLUSIONES	39
VIII.	BIBLIOGRAFIA	40

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria de los alimentos enfrenta un desafío tecnológico constante: la mitigación de los procesos oxidativos. La oxidación de lípidos es una de las principales causas del deterioro alimentario, responsable de la pérdida de valor nutricional, la degradación del color y el desarrollo de olores y sabores indeseables que reducen drásticamente la vida útil de los productos (Shahidi & Zhong, 2010; Wang et al., 2023). Históricamente, este problema se ha controlado mediante la adición de antioxidantes sintéticos. Sin embargo, en los últimos años se ha incrementado notablemente el interés científico e industrial por sustituirlos parcial o totalmente por alternativas de origen natural (Xu et al., 2021). Esta transición es impulsada por la creciente demanda de los consumidores hacia productos de etiqueta limpia (*clean label*) y con la percepción de riesgo asociada al consumo prolongado de algunos aditivos sintéticos. Lo anterior ha posicionado a los compuestos antioxidantes de origen vegetal como una alternativa prometedora para la formulación de alimentos (Asioli et al., 2017; Chauhan & Rao, 2024).

En este contexto, las especias y las plantas aromáticas representan una amplia y diversa fuente de metabolitos secundarios, particularmente compuestos fenólicos, flavonoides y terpenoides, relacionados con actividad antioxidante y potencial biofuncional (Gutiérrez-del-Río et al., 2021). Especies como el comino (*Cuminum cyminum*), la pimienta negra (*Piper nigrum*) y el tomillo (*Thymus vulgaris*), han sido ampliamente utilizadas en la alimentación humana y en la medicina tradicional debido a sus propiedades sensoriales, conservadoras y bioactivas (Lemoni et al., 2025). Diversos estudios han reportado la presencia de compuestos fenólicos y otros metabolitos antioxidantes en estas especies (Nieto et al., 2023). No obstante, la información científica y tecnológica sobre la semilla de comino, el fruto entero de pimienta negra y la biomasa aérea de tomillo compuesta por hojas y tallos, aún requiere mayor desarrollo, particularmente cuando son procesadas mediante tecnologías de extracción con potencial de escalamiento (Plaskova et al., 2023).

Para lograr un aprovechamiento industrial de estos fitoquímicos, el método de extracción constituye un factor determinante, ya que influye directamente en el rendimiento, la composición química y la actividad biológica de los extractos obtenidos (Plaskova et al., 2023). El empleo de mezclas hidroalcohólicas agua-etanol resulta especialmente relevante, debido a que permite modificar la polaridad del medio y favorecer la solubilización de compuestos con diferente

naturaleza química (Plaskova et al., 2023). Además, el uso de solventes de grado alimenticio, combinado con tecnologías de extracción de menor impacto ambiental, puede favorecer la obtención de extractos compatibles con aplicaciones en formulaciones alimentarias (Nieto et al., 2023). En este sentido, los sistemas hidroalcohólicos representan alternativas de interés para la obtención de ingredientes naturales con potencial antioxidante. Sin embargo, es necesario evaluar experimentalmente la respuesta de cada matriz vegetal al proceso de extracción utilizado (Plaskova et al., 2023).

En particular, se requiere determinar cómo responden las semillas de comino, los frutos de pimienta negra y la biomasa aérea de tomillo frente a un sistema de extracción hidroalcohólico, considerando tanto sus parámetros fisicoquímicos, su contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante. Por lo anterior, el presente trabajo busca obtener y caracterizar extractos hidroalcohólicos de estas tres matrices vegetales, mediante la determinación de sólidos solubles, grado alcohólico, azúcares totales, fenoles totales y capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS. Con ello, se pretende aportar información técnico-científica básica que contribuya a la valorización de estas especies aromáticas y sienten las bases para su futuro aprovechamiento como ingredientes naturales con potencial antioxidante para la industria alimentaria.

II. HIPÓTESIS

Se plantea que los extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir del material vegetal de comino, pimienta y tomillo presentarán diferencias en su contenido de compuestos antioxidantes y en sus características fisicoquímicas al utilizar un proceso a escala de 3 L de solvente.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Obtener y caracterizar extractos hidroalcohólicos utilizando 3 litros de solvente a partir del material vegetal de comino (semilla), pimienta (fruto) y tomillo (biomasa aérea), mediante la determinación de su contenido de compuestos bioactivos y parámetros fisicoquímicos.

3.2 Objetivos específicos

- Obtener extractos hidroalcohólicos de las matrices vegetales de comino, pimienta y tomillo utilizando 3 litros de una mezcla agua-etanol (1:1) como solvente en un equipo de extracción térmica.
- Determinar el contenido de fenoles totales y evaluar la capacidad antioxidante en los extractos hidroalcohólicos obtenidos.
- Cuantificar los azúcares totales, alcohol residual y los sólidos solubles totales presentes en los extractos.
- Comparar los resultados obtenidos entre las diferentes matrices vegetales con el fin de identificar su potencial antioxidante e idoneidad tecnológica.

IV. ANTECEDENTES

4.1 Antecedentes generales: antioxidantes y alimentos

En la ciencia de los alimentos, el término «antioxidante» se utiliza para describir a aquellos compuestos capaces de bloquear o retrasar la peroxidación lipídica y otras reacciones oxidativas (Shahidi & Zhong, 2010; Wang et al., 2023). La principal función de estos compuestos en los sistemas alimentarios es mantener la frescura de los productos y prolongar su vida útil. A nivel molecular, los antioxidantes actúan neutralizando las especies reactivas de oxígeno (radicales libres) (Xu et al., 2021), las cuales son responsables de desencadenar procesos de degradación. Sin embargo, es importante destacar que la dosis de estos compuestos debe ser controlada, ya que en altas concentraciones algunos antioxidantes pueden presentar un efecto contrario, actuando como prooxidantes e induciendo toxicidad (Yang et al., 2018).

Para prevenir el deterioro oxidativo, la industria alimentaria ha utilizado históricamente aditivos sintéticos, tales como el butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT) y la terc-butilhidroquinona (TBHQ) (Chauhan & Rao, 2024). No obstante, en la actualidad su uso ha sido cuestionado por la percepción negativa de algunos consumidores y por la búsqueda de ingredientes de etiqueta limpia (Chauhan & Rao, 2024). Esto ha ejercido una fuerte presión sobre los fabricantes para buscar alternativas naturales más seguras, enfocando la investigación en el aprovechamiento de fuentes vegetales (Gutiérrez-del-Río et al., 2021).

4.2 Antioxidantes naturales de origen vegetal

En este contexto de sustitución de aditivos sintéticos, las plantas aromáticas y las especias destacan como reservorios de fitoquímicos con bioactividad. Entre los principales grupos de metabolitos secundarios responsables de esta capacidad antioxidante se encuentran los polifenoles (incluyendo diversos flavonoides) y los terpenoides (Gutiérrez-del-Río et al., 2021). Estos compuestos poseen la capacidad de eliminar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno —tales como los radicales superóxido, hidroxilo o peroxilo—, interrumpiendo así las reacciones en cadena en matrices alimentarias (Gutiérrez-del-Río et al., 2021).

La aplicación de estos compuestos bioactivos resulta de gran importancia funcional y sensorial, ya que su incorporación en alimentos susceptibles a la oxidación (como carnes, aceites y productos ricos en grasas) previene el deterioro visual, evita los cambios de color y frena la

generación de sabores y olores rancios, reduciendo el desperdicio de alimentos (Gutiérrez-del-Río et al., 2021).

Además, la distribución de estos compuestos varía significativamente según la parte anatómica de la planta que se procese (Nieto et al., 2023). La matriz estructural de las semillas, los frutos y los tejidos foliares/leñosos define el tipo y la concentración de metabolitos secundarios disponibles (Nieto et al., 2023). Ciertas hojas concentran ácidos fenólicos como mecanismo de defensa contra la radiación, las semillas y los frutos desarrollan redes fitoquímicas para proteger el material genético y asegurar la germinación, acumulando altas concentraciones de aceites, alcaloides y polifenoles densos (Tohidi et al., 2017). Esta variabilidad anatómica justifica la necesidad de caracterizar cada matriz botánica por separado para encontrar su mayor potencial tecnológico.

4.3 Especies vegetales estudiadas

4.3.1 Comino (*Cuminum cyminum*)

El comino (*Cuminum cyminum* L.) es una especie ampliamente utilizada en la industria alimentaria debido a sus propiedades aromáticas, sensoriales y funcionales. La parte de mayor aprovechamiento comercial corresponde a la semilla, la cual contiene diversos metabolitos secundarios, entre ellos compuestos fenólicos, terpenoides y otros constituyentes asociados con actividad antioxidante (Singh et al., 2021; Shamsiev et al., 2021). Estos compuestos pueden participar en la neutralización de radicales libres mediante mecanismos de transferencia de electrones o donación de hidrógeno, por lo que su cuantificación resulta relevante para evaluar el potencial del comino como fuente natural de antioxidantes (Singh et al., 2021; Shamsiev et al., 2021).

Diversos estudios han reportado que los extractos de comino presentan capacidad antioxidante, así como contenidos variables de fenoles totales dependiendo del tipo de solvente y de las condiciones de extracción empleadas (Singh et al., 2021). En particular, el uso de mezclas hidroalcohólicas agua-etanol favorece la recuperación de compuestos con diferente polaridad, (Shamsiev et al., 2021).

4.3.2 Pimienta negra (*Piper nigrum*)

La pimienta negra (*Piper nigrum* L.) es una de las especias de mayor consumo a nivel mundial y se utiliza ampliamente como condimento debido a su sabor pungente y aroma característico. Su fruto contiene compuestos bioactivos de interés, entre los que destaca la piperina, además de compuestos fenólicos, flavonoides y otros metabolitos secundarios que han sido relacionados con actividad antioxidante (Al-Khayri et al., 2022; Zarai et al., 2013). Debido a esta composición, el fruto de pimienta negra representa una matriz vegetal con potencial para la obtención de extractos funcionales de aplicación alimentaria.

La capacidad antioxidante de los extractos de *Piper nigrum* ha sido evaluada mediante ensayos como DPPH y ABTS, los cuales permiten estimar la capacidad de los compuestos presentes para neutralizar radicales libres (Al-Khayri et al., 2022). La eficiencia de extracción de estos metabolitos depende de factores como el tamaño de partícula, la temperatura, el tiempo de contacto y la polaridad del solvente (Plaskova et al., 2023).

4.3.3 Tomillo (*Thymus vulgaris*)

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) es una planta aromática de amplio uso culinario y medicinal, reconocida por la presencia de metabolitos secundarios con actividad biológica. Entre sus principales compuestos se han reportado monoterpenos fenólicos como timol y carvacrol, así como compuestos fenólicos no volátiles, incluyendo ácido rosmarínico, ácido cafeico y flavonoides (Walasek-Janusz et al., 2025). Estos metabolitos han sido asociados con actividad antioxidante, antimicrobiana y conservadora, lo que ha impulsado el interés por su aprovechamiento en alimentos (Walasek-Janusz et al., 2025).

La composición bioactiva del tomillo puede variar de acuerdo con la parte anatómica utilizada, ya que las hojas suelen concentrar una mayor proporción de compuestos fenólicos y aromáticos, mientras que los tallos presentan una mayor proporción de tejido estructural lignificado (Walasek-Janusz et al., 2025). Por esta razón, cuando se emplea biomasa aérea compuesta por hojas y tallos, la concentración de compuestos antioxidantes en el extracto puede depender de la proporción relativa de ambos tejidos. Este aspecto es relevante para interpretar los resultados de fenoles totales y capacidad antioxidante obtenidos en extractos vegetales.

4.4 Extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación

La recuperación de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales depende directamente del método de extracción, del tipo de solvente utilizado y de las condiciones de proceso aplicadas (Plaskova et al., 2023). En el caso de especias y plantas aromáticas, los metabolitos de interés pueden presentar diferente polaridad y estabilidad térmica, por lo que la selección del sistema de extracción es determinante para obtener extractos con potencial funcional (Kaczorová et al., 2021; Lee et al., 2024). Entre los factores más importantes se encuentran la relación sólido-líquido, la temperatura, el tiempo de contacto, el tamaño de partícula y la composición del solvente (Alara et al., 2021).

El uso de mezclas hidroalcohólicas agua-etanol permite modificar la polaridad del medio y favorecer la recuperación simultánea de compuestos hidrofílicos y de polaridad intermedia (Kaczorová et al., 2021; Lee et al., 2024). Mientras que el agua facilita la solubilización de azúcares, ácidos fenólicos y otros compuestos polares, el etanol contribuye a la extracción de metabolitos menos polares, como ciertos flavonoides, terpenoides y compuestos aromáticos (Huamán-Castilla et al., 2024).

El sistema de extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación permite colocar el material vegetal triturado en contacto directo con una mezcla agua-etanol 1:1 (v/v), aplicar calentamiento y recuperar posteriormente un condensado líquido. De esta manera, el proceso combina principios de extracción sólido-líquido asistida por temperatura con una etapa de destilación-condensación, favoreciendo la transferencia de compuestos solubles desde la matriz vegetal hacia el solvente hidroalcohólico.

Este enfoque resulta pertinente para la obtención de extractos vegetales complejos, ya que no se limita exclusivamente a la recuperación de aceites esenciales o compuestos volátiles, sino que también permite obtener una fracción líquida con sólidos solubles, azúcares, compuestos fenólicos y otros metabolitos potencialmente antioxidantes.

La aplicación de este sistema en matrices como semilla de comino, fruto de pimienta negra y biomasa aérea de tomillo permite comparar la respuesta de materiales vegetales con diferente composición anatómica y fitoquímica frente a un mismo proceso de extracción. Esta comparación es relevante para identificar qué matriz presenta mayor potencial antioxidante y

mejores características tecnológicas para su posible aprovechamiento como ingrediente natural en alimentos

4.5 Fenoles totales y métodos de evaluación antioxidante

La caracterización antioxidante de extractos vegetales requiere el uso de indicadores que permitan estimar tanto la presencia de compuestos bioactivos como su capacidad para neutralizar radicales libres. En el caso de especias y plantas aromáticas, los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios más importantes (Sadeer et al., 2020). Debido a su estructura química, caracterizada por la presencia de grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos, los compuestos fenólicos pueden participar en reacciones de transferencia de electrones o donación de hidrógeno (Pérez et al., 2023). Por esta razón, la cuantificación de fenoles totales se utiliza comúnmente como una primera aproximación para estimar el potencial antioxidante de extractos vegetales.

El método de Folin-Ciocalteu es una de las técnicas espectrofotométricas más empleadas para determinar el contenido de fenoles totales. Este ensayo se basa en la capacidad reductora de los compuestos presentes en la muestra, los cuales reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio alcalino, generando una coloración azul que puede cuantificarse por absorbancia (Pérez et al., 2023). Los resultados suelen expresarse como equivalentes de ácido gálico (EAG), lo que permite comparar el contenido fenólico entre diferentes extractos vegetales. No obstante, este método no es completamente específico para compuestos fenólicos, ya que otras sustancias reductoras, como ácido ascórbico, azúcares reductores o algunos aminoácidos, pueden contribuir parcialmente a la señal obtenida (Pérez et al., 2023). Por ello, los resultados de fenoles totales deben interpretarse como una estimación global de la capacidad reductora del extracto y complementarse con ensayos antioxidantes específicos.

Entre los métodos más utilizados para evaluar la capacidad antioxidante in vitro se encuentran los ensayos DPPH y ABTS. El método DPPH se basa en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, el cual presenta una coloración violeta que disminuye cuando entra en contacto con compuestos capaces de donar electrones o átomos de hidrógeno (Sadeer et al., 2020). Esta disminución de absorbancia permite estimar la capacidad del extracto para estabilizar radicales libres. Por su parte, el ensayo ABTS utiliza el catión radical $ABTS^{\bullet+}$, cuya neutralización también se refleja en una disminución de color. A diferencia del DPPH, el radical

ABTS puede emplearse en medios acuosos y orgánicos, por lo que resulta útil para evaluar extractos que contienen compuestos de diferente polaridad (Sadeer et al., 2020). El uso conjunto de fenoles totales, DPPH y ABTS permite obtener una evaluación más amplia del potencial antioxidante de los extractos hidroalcohólicos.

4.6 Parámetros fisicoquímicos

Además de la caracterización antioxidante, la evaluación de los parámetros fisicoquímicos es necesaria para describir la composición general de los extractos obtenidos y valorar su posible uso tecnológico. En extractos vegetales hidroalcohólicos, variables como los sólidos solubles totales, el contenido de azúcares y el grado alcohólico residual permiten conocer características importantes del producto líquido obtenido después del proceso de extracción.

Los sólidos solubles totales, expresados comúnmente como grados Brix, proporcionan una estimación general de la cantidad de compuestos solubles presentes en el extracto. Aunque este parámetro se asocia principalmente con azúcares, en extractos vegetales también puede reflejar la presencia de otros solutos, como ácidos orgánicos, sales, compuestos fenólicos y metabolitos extraídos de la matriz vegetal (Garner et al., 2008). Por ello, su determinación permite comparar de manera rápida la concentración soluble general entre extractos obtenidos de diferentes materias primas. La cuantificación de azúcares totales complementa la medición de sólidos solubles, ya que permite estimar específicamente la fracción de carbohidratos extraída hacia el medio hidroalcohólico.

El grado alcohólico residual es otro parámetro relevante en extractos hidroalcohólicos, ya que indica la proporción de etanol que permanece en el extracto final después del proceso térmico y de destilación. Su medición permite verificar la composición final del producto líquido obtenido y establecer una base para futuras etapas de formulación, concentración o aplicación alimentaria.

4.7 Aplicación potencial de extractos vegetales en alimentos

El uso de extractos vegetales como ingredientes naturales ha adquirido importancia en la industria alimentaria debido al interés por sustituir parcial o totalmente algunos aditivos sintéticos y responder a la demanda de productos con etiquetas más limpias (*clean label*) (Asioli et al., 2017; Chauhan & Rao, 2024). En este contexto, los extractos obtenidos a partir de

especias y plantas aromáticas representan una alternativa de interés, que pueden aportar compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, y contribuir con propiedades sensoriales propias de la matriz vegetal (Asioli et al., 2017; Chauhan & Rao, 2024).

Desde el punto de vista tecnológico, los extractos ricos en compuestos fenólicos pueden ser útiles en alimentos susceptibles al deterioro oxidativo, como aceites, emulsiones, productos cárnicos, botanas, salsas o formulaciones con alto contenido lipídico (Wang et al., 2023). Su función se relaciona con la capacidad de retardar reacciones de oxidación, disminuir la formación de compuestos asociados con rancidez y contribuir a la conservación de la calidad sensorial durante el almacenamiento (Shahidi & Zhong, 2010; Wang et al., 2023). Sin embargo, su eficacia depende de diversos factores, como la concentración aplicada, la composición química del extracto, la interacción con la matriz alimentaria, el pH, la presencia de lípidos, la actividad de agua y las condiciones de procesamiento y almacenamiento (Shahidi & Zhong, 2010; Wang et al., 2023).

En el caso de extractos hidroalcohólicos, la determinación de parámetros como sólidos solubles, azúcares totales y grado alcohólico residual resulta importante para valorar su posible incorporación en sistemas alimentarios. Estos parámetros permiten conocer la composición general del extracto y anticipar aspectos relacionados con su estabilidad, concentración de solutos y compatibilidad tecnológica.

Por lo tanto, los extractos hidroalcohólicos de comino, pimienta negra y tomillo pueden considerarse matrices de interés para el desarrollo de ingredientes naturales con potencial antioxidante. No obstante, para confirmar su uso en alimentos será necesario realizar estudios posteriores en matrices reales, evaluando estabilidad, dosis de aplicación, efecto sensorial, actividad antioxidante durante almacenamiento e inocuidad del producto final.

4.8 Brecha de conocimiento e implicaciones del estudio

La revisión de antecedentes muestra que el comino (*Cuminum cyminum*), la pimienta negra (*Piper nigrum*) y el tomillo (*Thymus vulgaris*) han sido ampliamente estudiados por su contenido de metabolitos secundarios y su actividad antioxidante (Lemoni et al., 2025). Sin embargo, la mayoría de los estudios disponibles se enfocan en extractos obtenidos mediante metodologías convencionales, aceites esenciales, fracciones específicas o condiciones de laboratorio que no

siempre coinciden con sistemas de extracción térmica con potencial de escalamiento (Plaskova et al., 2023).

En este sentido, aún existe información limitada sobre la respuesta comparativa de matrices vegetales anatómicamente diferentes cuando son sometidas a un proceso de extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación. Además, aunque los métodos DPPH, ABTS y Folin-Ciocalteu son ampliamente utilizados para evaluar extractos vegetales, la comparación de estos indicadores con parámetros tecnológicos básicos, como °Brix, azúcares totales y grado alcohólico residual, permite obtener una visión más completa del producto líquido obtenido. Esta información es necesaria para valorar no solo el potencial antioxidante del extracto, sino también su posible idoneidad como ingrediente natural en futuras formulaciones alimentarias.

Por lo anterior, el presente estudio contribuye a generar información técnico-científica básica sobre la obtención y caracterización de extractos hidroalcohólicos de comino, pimienta negra y tomillo mediante un sistema térmico acoplado a destilación. Los resultados permitirán comparar el comportamiento de las tres matrices vegetales y establecer una primera aproximación sobre su potencial como fuentes naturales de compuestos antioxidantes. Esta información puede servir como base para estudios posteriores orientados a la optimización del proceso, evaluación de estabilidad, análisis sensorial e incorporación de los extractos en matrices alimentarias reales.

V. METODOLOGÍA

El proceso de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas (LFB) dentro del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

5.1 Obtención y acondicionamiento del material vegetal

Las muestras de semilla de comino (*Cuminum cyminum*), fruto entero de pimienta negra (*Piper nigrum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*, compuesto por mezcla de hojas y tallos) fueron suministradas por la empresa Mega Alimentos, garantizando así un grado de calidad y pureza comercial. El material vegetal fue trasladado al LFB de la UAAAN para su procesamiento. Previo a la extracción, las matrices fueron sometidas a un proceso de reducción de tamaño mediante trituración. Se optó por una trituración de tamaño de partícula de 3-5 mm, evitando una pulverización excesiva. Este criterio técnico se aplicó con el objetivo de prevenir la compactación del lecho vegetal dentro del equipo en la zona de conducción y separación, garantizando así que el flujo de vapor y solvente pudiera atravesar de manera uniforme toda la muestra durante el proceso, maximizando la transferencia de masa (Figura 1).



Figura 1. Aspecto físico y tamaño de partícula de las matrices vegetales trituradas previo al proceso de extracción: (a) semilla de comino, (b) fruto de pimienta negra y (c) biomasa de tomillo (propiedad del autor).

5.2 Preparación de los extractos hidroalcohólicos

Para la recuperación de los compuestos bioactivos, se empleó un sistema de extracción hidroalcohólica térmica acoplado a una torre de destilación, diseñado específicamente para este proceso. Como solvente extractor se utilizó una mezcla de agua destilada y etanol de grado alimenticio en proporción 1:1 (v/v) (Figura 2).



Figura 2. Equipo diseñado para la extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación, utilizado para la obtención de extractos vegetales a partir de comino, pimienta negra y tomillo (Propiedad del autor).

Para cada tratamiento, se colocaron 500 g de material vegetal triturado en un recipiente de extracción junto con 3 L de una mezcla hidroalcohólica agua-etanol en proporción 1:1 (v/v). El sistema fue conectado a una torre de destilación, permitiendo el calentamiento de la mezcla, la volatilización parcial del solvente y la recuperación del condensado enriquecido con compuestos extraídos de la matriz vegetal. Bajo este esquema, el proceso puede describirse como una

extracción hidroalcohólica asistida por calentamiento y destilación, empleando solventes de grado alimenticio. Las extracciones se realizaron de manera estandarizada por lotes para cada una de las especies vegetales. Los tiempos de extracción se variaron para cada especie, considerando la obtención final de 1 L de extracto líquido condensado.

Inmediatamente después de su extracción, los extractos líquidos obtenidos de las tres especies fueron envasados en frascos de vidrio. Para asegurar la estabilidad fisicoquímica de los polifenoles y evitar su fotodegradación, los recipientes fueron recubiertos con papel aluminio y almacenados bajo refrigeración (4 °C) hasta la realización de las evaluaciones analíticas correspondientes.

5.3 Determinación de azúcares totales por el método de fenol-sulfúrico

Para la cuantificación de los carbohidratos totales presentes en los extractos, se empleó el método colorimétrico descrito por Dubois et al. (1956). El fundamento de esta técnica radica en la sensibilidad de los carbohidratos frente a la acción combinada de ácidos fuertes y altas temperaturas. Bajo estas condiciones, los azúcares experimentan una deshidratación catalizada por el ácido sulfúrico, generando derivados del furano (como el hidroximetilfurfural). Posteriormente, estos derivados condensan con compuestos fenólicos para producir un complejo intensamente colorido, cuya absorbancia es directamente proporcional a la concentración de azúcares en la muestra.

Para llevar a cabo el ensayo, se tomó una alícuota de 500 µL de cada extracto y se colocó en tubos de ensayo de vidrio (13x100 mm). Para la preparación del blanco de reacción, se sustituyó la muestra por el mismo volumen de agua destilada. A cada tubo se le adicionaron 500 µL de una solución acuosa de fenol al 5% (v/v). La mezcla se agitó suavemente y se sometió a un baño de hielo durante 5 minutos para controlar la temperatura basal.

Manteniendo los tubos en el baño de hielo, se adicionó de manera cuidadosa, resbalando por las paredes interiores del tubo, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Esta mezcla se dejó reposar en frío durante un periodo de 15 minutos. Transcurrido este tiempo, los tubos se agitaron vigorosamente empleando un agitador tipo vórtex y se transfirieron a un baño térmico ajustado a 80 °C durante 5 minutos, con el propósito de favorecer y acelerar la reacción de condensación. Finalmente, las muestras se retiraron del baño térmico y se dejaron enfriar a

temperatura ambiente por 5 minutos. La intensidad del color desarrollado se cuantificó midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 480 nm utilizando un espectrofotómetro. Las lecturas se realizaron empleando celdas de cuarzo, ajustando previamente el equipo a cero con el blanco de reacción. La concentración de azúcares totales en los extractos se determinó mediante interpolación, comparando las absorbancias obtenidas contra una curva de calibración construida a partir de una solución estándar de sacarosa al 0.1 % ($y = 1.3166x + 0.1561$; $R^2 = 0.9944$). Los valores se reportaron como miligramos de glucosa por gramo de materia seca (mg Glc/g MS).

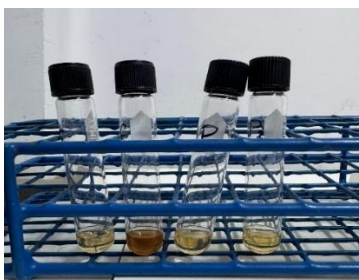


Figura 3. Desarrollo de la reacción colorimétrica para la cuantificación de azúcares totales mediante el método de fenol-sulfúrico (propiedad del autor).

5.4 Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos se empleó el ensayo de inhibición del catión radical ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) descrito por Re et al., (1999). En una primera etapa, se procedió a la generación química del radical libre (ABTS^{•+}). Para ello, se preparó una solución acuosa de ABTS a una concentración de 7 mM, disolviendo 38.4 mg del reactivo en 10 mL de agua destilada. De forma paralela, se preparó una solución oxidante disolviendo 6.62 mg de persulfato de potasio en 10 mL de agua destilada. Ambas preparaciones se llevaron a cabo en recipientes ámbar (o forrados con papel aluminio) para protegerlas de la fotodegradación y se mantuvieron bajo agitación magnética durante 10 minutos para asegurar la completa disolución de los solutos. Posteriormente, ambas soluciones se mezclaron y la preparación resultante se mantuvo en agitación constante y en estricta oscuridad durante un periodo de 14 a 16 horas a temperatura ambiente, tiempo necesario para la formación estable del catión radical ABTS^{•+}.

Previo a la evaluación de los extractos, la solución madre del radical se diluyó utilizando etanol como disolvente hasta alcanzar una absorbancia de referencia de 0.70 ± 0.02 a una longitud de onda de 750 nm. Para llevar a cabo el ensayo espectrofotométrico, se utilizó una microplaca de 96 pocillos. En cada pocillo correspondiente se colocó una alícuota de 10 μ L de la muestra (extracto), seguida de la adición de 200 μ L de la solución ajustada del radical ABTS^{•+}. La mezcla se homogenizó de manera suave y se dejó reposar en la oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a realizar la lectura de la absorbancia de las muestras a 750 nm utilizando un lector de microplacas. La capacidad antioxidante en los extractos se determinó mediante interpolación, comparando las absorbancias obtenidas contra una curva de calibración construida a partir de una solución estándar de trolox (250 ppm) ($y = -0.0022x + 0.6018$; $R^2 = 0.9792$). Los valores se reportaron como miligramos equivalentes de trolox por gramo de materia seca (mg ET/g MS).



Figura 4. Ensayo de inhibición del catión radical ABTS, evidenciando la actividad antioxidante de los extractos (Propiedad del autor).

5.5 Evaluación de la capacidad antioxidante por el método DPPH

Para determinar la capacidad de captación de radicales libres de los extractos, se empleó el ensayo basado en la reducción del radical sintético DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) descrito por Brand-Williams et al., (1995). Inicialmente, se procedió a la preparación de una solución madre de DPPH a una concentración de 0.1 mM. Para ello, se pesaron 3.94 mg del reactivo y se aforaron a un volumen final de 100 mL utilizando etanol como disolvente. A fin de garantizar la completa disolución del reactivo y proteger la solución de la degradación fotocatalítica, la

preparación se llevó a cabo en un recipiente ámbar (o recubierto con papel aluminio) y se mantuvo bajo agitación magnética continua durante un lapso de 2 horas.

Para la fase de reacción y evaluación espectrofotométrica, se empleó una microplaca de 96 pocillos. En cada pocillo correspondiente, se depositó una alícuota de 25 μL de la muestra de extracto (previamente diluida según los requerimientos del diseño experimental). Posteriormente, se adicionaron 200 μL de la solución de DPPH estabilizada. La mezcla de reacción se homogenizó de manera suave y se dejó reposar en estricta oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente, permitiendo así el desarrollo de la reacción redox. Concluido el tiempo de incubación, se procedió a medir la absorbancia de cada pocillo a una longitud de onda de 517 nm mediante el uso de un lector de microplacas. La capacidad antioxidante en los extractos se determinó mediante interpolación, comparando las absorbancias obtenidas contra una curva de calibración construida a partir de una solución estándar de trolox (250 ppm) ($y = -0.0031x + 0.9403$; $R^2 = 0.9934$). Los valores se reportaron como miligramos equivalentes de trolox por gramo de materia seca (mg ET/g MS).

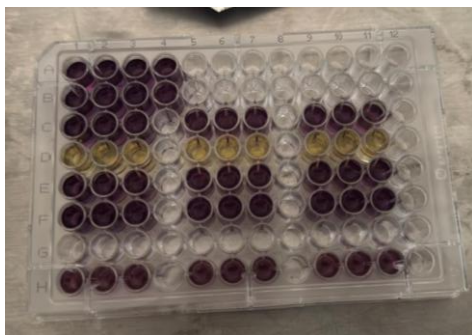


Figura 5. Ensayo de capacidad atrapadora del radical libre DPPH, mostrando el decaimiento cromático generado por los extractos (propiedad del autor).

5.6 Determinación del contenido de fenoles totales

Para la cuantificación del contenido de fenoles totales presentes en los extractos hidroalcohólicos, se implementó el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, fundamentado en la metodología descrita por Waterman & Mole, (1994) con ligeras modificaciones. El principio de este ensayo se basa en la transferencia de electrones en un

medio alcalino, donde los compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-Ciocalteu, produciendo un complejo de color azul que puede ser cuantificado.

El procedimiento analítico consistió en transferir una alícuota de 400 μL del extracto líquido a un tubo de ensayo provisto de tapa. A dicha muestra se le adicionaron 400 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu. La mezcla se agitó vigorosamente para garantizar una completa homogeneización y se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, para establecer el medio alcalino indispensable para la reacción de óxido-reducción, se incorporaron 400 μL de una solución acuosa de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7.5% (p/v). Tras una nueva etapa de agitación y un periodo de reposo adicional de 5 minutos, se adicionaron 2 mL de agua destilada al tubo de ensayo.

Finalmente, se procedió a medir la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 725 nm empleando un espectrofotómetro. La concentración de fenoles totales en los extractos se determinó por interpolación matemática, comparando las absorbancias de las muestras contra una curva de calibración estándar de ácido gálico (400 ppm), expresando los resultados finales en función de los equivalentes correspondientes ($y = 0.0063x + 0.0758$; $R^2 = 0.9974$). Los valores se reportaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca (mg EAG/g MS).



Figura 6. Reacción de óxido-reducción del complejo de Folin-Ciocalteu para la determinación espectrofotométrica de fenoles totales (propiedad del autor).

5.7 Determinación de sólidos solubles totales (Grados Brix)

La cuantificación de los sólidos solubles totales presentes en los extractos hidroalcohólicos se realizó mediante refractometría, expresando los valores directamente en la escala de grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$). El procedimiento consistió en calibrar inicialmente un refractómetro digital utilizando

agua destilada como blanco para establecer el punto de cero a temperatura ambiente. Posteriormente, se colocó una gota homogénea de cada extracto sobre el sensor del instrumento digital, asegurando que la muestra cubriera por completo la superficie y que no se formaran burbujas de aire que pudieran interferir con la lectura. Tras la estabilización automática del equipo, se registró el valor digital directo en la pantalla. Este análisis se efectuó por triplicado para los extractos de comino, pimienta y tomillo, limpiando y secando minuciosamente la celda de lectura entre cada medición con agua destilada y papel óptico para evitar cualquier residuo o contaminación cruzada.



Figura 7. Cuantificación de sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Bx}$) en los extractos hidroalcohólicos mediante el uso de un refractómetro digital (propiedad del autor).

5.8 Medición del grado alcohólico

La determinación del grado alcohólico residual (porcentaje de etanol en volumen, % v/v) en los extractos líquidos se llevó a cabo con el propósito de evaluar la concentración final del solvente tras el proceso en el sistema de extracción térmica acoplado a destilación. Para realizar esta medición, se utilizó un refractómetro óptico manual específico para alcohol. El procedimiento se ejecutó colocando una gota de la muestra directamente sobre el prisma principal del refractómetro de óptica, cerrando inmediatamente la placa de luz para permitir que el líquido se distribuyera de manera uniforme sobre la superficie cristalina. Posteriormente, se dirigió el instrumento hacia una fuente de luz natural para observar a través del ocular, realizando la lectura directa en la escala centesimal en el punto donde interceptan las zonas clara y oscura de la interfase óptica. El prisma y la placa se limpiaron cuidadosamente con agua y alcohol después de cada lectura para garantizar la exactitud de las mediciones subsecuentes.



Figura 8. Determinación del grado alcohólico residual (% v/v) de las muestras mediante un refractómetro óptico manual específico para alcohol (Propiedad del autor).

5.9 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos para sólidos solubles totales, porcentaje de alcohol residual, azúcares totales, fenoles totales y capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. Cada determinación se realizó por triplicado para los extractos hidroalcohólicos de comino, pimienta negra y tomillo.

Para evaluar el efecto de la matriz vegetal sobre cada variable de respuesta, se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), considerando como factor independiente el tipo de muestra con tres niveles: comino, pimienta negra y tomillo. Previamente, se verificaron los supuestos de normalidad de los residuos mediante la prueba de Anderson-Darling y homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Bartlett. Cuando se detectaron diferencias significativas en el ANOVA, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$. En caso de que los datos no cumplieran los supuestos de normalidad u homogeneidad de varianzas, se consideró la aplicación de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida de una comparación múltiple mediante la macro %KrusMC en Minitab 19. Adicionalmente, se evaluó de manera exploratoria la relación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante mediante análisis de correlación de Pearson. Los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza del 95%, considerando diferencias significativas cuando $p < 0.05$.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares totales

La evaluación inicial de los extractos hidroalcohólicos consistió en la determinación de sus parámetros fisicoquímicos básicos (Tabla 1), los cuales son indicadores críticos del rendimiento del sistema de extracción térmica acoplado a destilación.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica y contenido de azúcares totales de extractos hidroalcohólicos de comino, pimienta negra y tomillo

Muestra	Azúcares Totales (mg Glc/g MS)	SST (°Bx)	Alcohol residual (%)
Tomillo	1.31 ± 0.32 b	20.43 ± 0.06 a	>80 a
Comino	17.94 ± 1.19 a	20.67 ± 0.15 a	>80 a
Pimienta	2.39 ± 0.40 ab	20.63 ± 0.06 a	>80 a

Los valores se expresan como media ± desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas entre muestras de acuerdo con ANOVA de una vía y prueba de Tukey ($p < 0.05$). Para azúcares totales, los resultados se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y comparación múltiple post hoc con ajuste de Bonferroni (macro %KrusMC) en Minitab 19; en esta variable, las letras indican diferencias significativas entre medianas ($p < 0.05$). Para alcohol residual, los valores se expresan como lectura aproximada del refractómetro óptico; no se reportó desviación estándar debido a que el equipo indicó valores superiores al 80% v/v.

Los resultados de sólidos solubles totales demostraron una alta consistencia entre las tres matrices vegetales evaluadas, obteniendo valores promedio de 20.43, 20.67 y 20.63 °Brix para los extractos de tomillo, comino y pimienta, respectivamente. De manera paralela, la medición del grado alcohólico residual arrojó valores superiores al 80% (v/v) para las tres especies. Esta similitud fisicoquímica indica que la transferencia de masa global y la eficiencia de recuperación del solvente en el sistema de extracción térmica acoplado a destilación fueron constantes y reproducibles, independientemente de la especie botánica procesada. Para el contenido de azúcares totales (AzT), la prueba de Kruskal-Wallis evidenció diferencias entre las matrices vegetales evaluadas. El extracto de comino presentó la mayor mediana, con 18.52 mg Glc/g MS, seguido por pimienta negra con 2.28 mg Glc/g MS y tomillo con 1.27 mg Glc/g MS. La comparación múltiple posterior mediante la macro %KrusMC en Minitab 19 mostró diferencia significativa únicamente entre comino y tomillo ($Z = 2.68$; $p = 0.007$), mientras que la pimienta

negra presentó un comportamiento intermedio. Esta respuesta sugiere que la semilla de comino liberó una mayor cantidad de compuestos solubles de naturaleza polar, posiblemente favorecida por la fracción acuosa del solvente hidroalcohólico. En contraste, el menor contenido observado en tomillo puede relacionarse con la presencia de tallos en la biomasa aérea, los cuales poseen una mayor proporción de tejido estructural y menor disponibilidad de carbohidratos solubles extraíbles.

Esta variación sugiere que, aunque el nivel de SST ($^{\circ}\text{Bx}$) es similar, la composición de AzT difiere. En el extracto de comino, el mayor contenido de AzT sugiere que una fracción importante de los sólidos extraídos correspondió a carbohidratos o compuestos polares solubles, los cuales pudieron ser co-extraídos por la fracción acuosa del solvente hidroalcohólico. Esta interpretación es congruente con lo reportado para semillas de *Cuminum cyminum*, las cuales presentan contenidos relevantes de azúcares, fibra, proteínas, aceites y otros metabolitos bioactivos (Merah et al., 2020; Allaq et al., 2020). Además, el uso de mezclas agua-etanol ha sido descrito como una estrategia adecuada para recuperar compuestos de diferente polaridad en matrices vegetales (Plaskova et al., 2023; Alara et al., 2021; Kaczorová et al., 2021), debido a que el agua favorece la solubilización de compuestos hidrofílicos, mientras que el etanol amplía la extracción hacia metabolitos de polaridad intermedia. En contraste, el menor contenido de azúcares totales observado en tomillo podría relacionarse con la naturaleza de la biomasa aérea utilizada, compuesta por hojas y tallos, donde la fracción soluble no necesariamente está dominada por carbohidratos, sino por metabolitos secundarios como ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides (Walasek-Janusz et al., 2025; Babotă et al., 2023). Asimismo, se ha reportado que los tallos y tejidos de sostén de hierbas aromáticas suelen presentar menor concentración de polifenoles y menor capacidad antioxidante que las hojas (Rusaczek et al., 2007), lo que puede contribuir a una menor recuperación de compuestos bioactivos cuando se procesa biomasa aérea heterogénea.

6.2 Contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales (FT) fue evaluado como el indicador global del potencial bioactivo de las muestras, debido a la reconocida capacidad de estos compuestos para donar electrones. Los resultados, expresados en equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g MS), evidenciaron diferencias estadísticas significativas entre las tres especies (Figura 9).

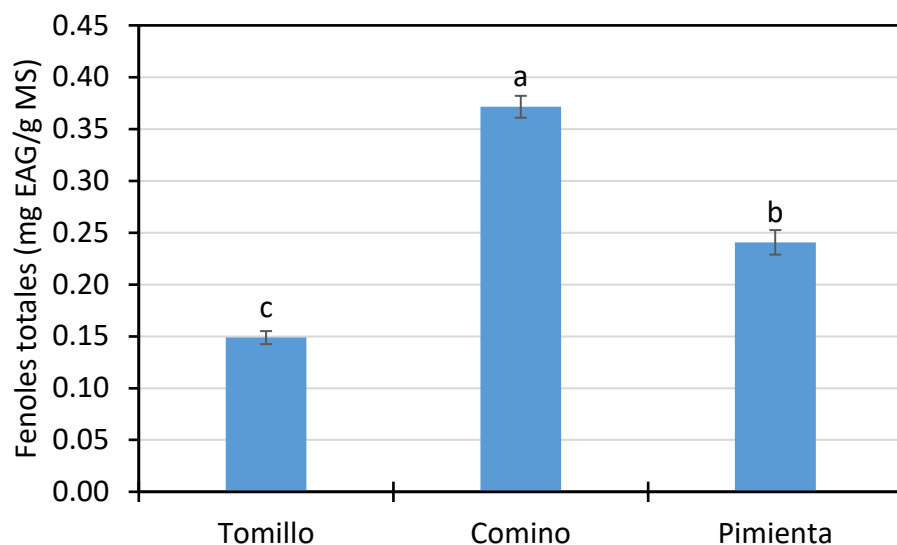


Figura 9. Contenido de fenoles totales en extractos hidroalcohólicos de tomillo, comino y pimienta negra.

El extracto de la semilla de comino exhibió la mayor concentración fenólica con 0.37 mg EAG/g MS, superando estadísticamente al resto de las muestras. En un segundo nivel se posicionó el extracto del fruto triturado de pimienta negra con 0.24 mg EAG/g MS, mientras que la mezcla foliar y de tallos de tomillo reportó la concentración más baja con 0.15 mg EAG/g MS. Estos hallazgos demuestran la eficiencia del sistema solvente (agua-etanol 1:1) aunada al sistema de extracción térmica acoplado a destilación para penetrar la dura matriz estructural de las semillas y frutos. El mayor contenido de FT observado en comino sugiere que la semilla de *Cuminum cyminum* presentó una mayor liberación de compuestos reductores bajo el sistema de extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación. Este resultado es congruente con estudios previos que describen al comino como una matriz rica en compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y ácidos fenólicos (El Tannir et al., 2024; Shamsiev et al., 2021). Por ejemplo, Shamsiev et al., (2021) evaluaron la extracción de polifenoles y antioxidantes de semillas de comino mediante extracción asistida por ultrasonido, mostrando que la concentración de etanol, el tiempo y la temperatura son factores determinantes en el contenido fenólico total y la capacidad antioxidante del extracto. De manera similar, El Tannir et al., (2024)

reportaron que las semillas de comino contienen polifenoles como flavonoides, taninos y ácidos fenólicos, los cuales contribuyen a sus propiedades biológicas.

La pimienta negra presentó un contenido fenólico intermedio. Este comportamiento puede relacionarse con su composición fitoquímica, ya que el fruto de *Piper nigrum* contiene piperina, compuestos fenólicos y otros metabolitos bioactivos. Al-Khayri et al., (2022) reportaron la presencia de fenoles, polifenoles totales y piperina en *Piper nigrum*, así como actividad antioxidante asociada a estos compuestos. Sin embargo, en comparación con el comino, la pimienta puede presentar una fracción bioactiva más diversa, donde no todos los metabolitos responsables de la actividad antioxidante son necesariamente cuantificados como fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu. Esto ayuda a explicar por qué, aunque la pimienta no presentó el valor más alto de fenoles totales, en otros ensayos puede mostrar una capacidad antioxidante destacada.

Por otra parte, el tomillo presentó el menor contenido de FT entre las matrices evaluadas. Este resultado debe interpretarse considerando que en el presente estudio se utilizó biomasa aérea compuesta por hojas y tallos. En especies aromáticas como *Thymus vulgaris*, se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos como ácido rosmarínico, ácido cafeico, luteolina, apigenina y quercetina, todos ellos relacionados con capacidad antioxidante (Walasek-Janusz et al., 2025). No obstante, la concentración de estos metabolitos puede variar de acuerdo con la parte vegetal utilizada, el estado de la muestra y las condiciones de extracción. La inclusión de tallos pudo reducir la concentración relativa de fenoles extraíbles, debido a que los tejidos de sostén suelen presentar mayor proporción de celulosa, lignina y estructuras menos ricas en metabolitos fenólicos en comparación con las hojas (Walasek-Janusz et al., 2025).

6.3 Evaluación de la capacidad antioxidante (Ensayos ABTS y DPPH)

Dada la complejidad estructural de los fitoquímicos y sus múltiples mecanismos de neutralización de radicales libres, la capacidad antioxidante de los extractos fue evaluada utilizando dos métodos espectrofotométricos complementarios: la estabilización del catión radical ABTS y la inhibición del radical sintético DPPH. Los resultados, expresados en miligramos equivalentes de Trolox por gramo de materia seca (mg ET/g MS), revelaron un comportamiento químico altamente dependiente de la especie vegetal, la parte anatómica analizada y el método empleado.

En el ensayo ABTS (Figura 10), el extracto de pimienta negra mostró la mayor actividad antioxidante, con 9.646 ± 0.852 mg TE/g MS, seguido por comino con 5.398 ± 0.836 mg TE/g MS y tomillo con 3.111 ± 0.425 mg TE/g MS. Las letras de comparación múltiple indican que las tres matrices fueron estadísticamente diferentes entre sí ($p < 0.05$), lo que confirma que la capacidad de neutralización del catión radical ABTS $\bullet^+$ dependió de la especie vegetal utilizada.

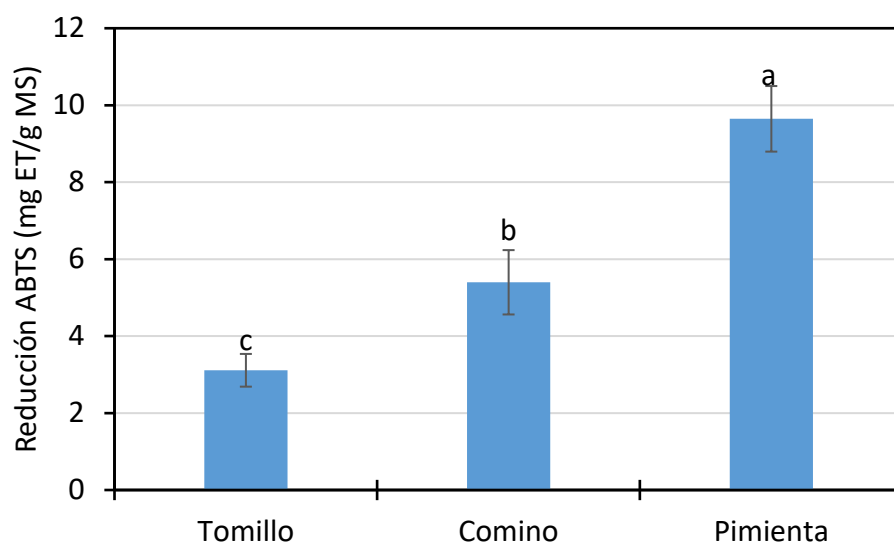


Figura 10. Capacidad antioxidante por ABTS de extractos hidroalcohólicos de tomillo, comino y pimienta negra.

En el ensayo DPPH se observó una tendencia similar (Figura 11), aunque con menor separación estadística entre algunas matrices. La pimienta negra presentó nuevamente el valor más alto, con 0.5396 ± 0.0806 mg TE/g MS, y fue estadísticamente diferente de comino y tomillo ($p < 0.05$). Sin embargo, comino y tomillo no presentaron diferencias significativas entre sí, con valores de 0.2637 ± 0.0265 y 0.1745 ± 0.0391 mg TE/g MS, respectivamente. Esto indica que, bajo las condiciones evaluadas, la pimienta negra fue la matriz con mayor actividad antioxidante en ambos métodos, mientras que la diferenciación entre comino y tomillo fue más evidente en ABTS que en DPPH.

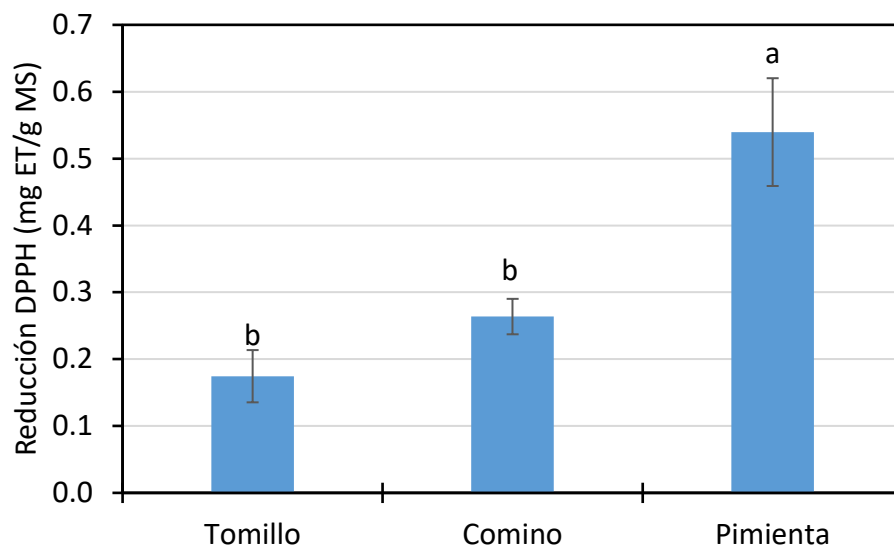


Figura 11. Capacidad antioxidante por DPPH de extractos hidroalcohólicos de tomillo, comino y pimienta negra.

La mayor actividad antioxidante de la pimienta negra puede relacionarse con su composición fitoquímica compleja. *Piper nigrum* contiene piperina, compuestos fenólicos, flavonoides y otros metabolitos secundarios que pueden contribuir a su capacidad de neutralizar radicales libres. Al-Khayri et al., (2022) reportaron la presencia de compuestos fenólicos, piperina y polifenoles totales en *Piper nigrum*, así como actividad antioxidante asociada a estos metabolitos. Además, estudios recientes sobre extractos etanólicos de pimienta negra han señalado que el método de extracción influye en el rendimiento, la cinética de extracción y la actividad antioxidante medida por diferentes ensayos, incluyendo DPPH y ABTS. Esto es congruente con los resultados obtenidos, donde la pimienta presentó la mayor respuesta antioxidante en ambos ensayos.

El comino mostró una actividad antioxidante intermedia. En ABTS, su valor fue significativamente mayor que el del tomillo, pero menor que el de la pimienta negra. En DPPH, aunque el comino presentó un valor numéricamente superior al tomillo, ambos tratamientos compartieron la misma letra estadística, lo que indica ausencia de diferencia significativa entre ellos. Esta respuesta puede atribuirse a que la semilla de *Cuminum cyminum* contiene compuestos fenólicos, flavonoides y otros metabolitos antioxidantes, pero su eficiencia de

reacción puede variar de acuerdo con el tipo de radical evaluado. Shamsiev et al., (2021) reportaron que la actividad antioxidante de extractos de comino depende de la concentración de etanol, temperatura y tiempo de extracción, mientras que El Tannir et al., (2024) señalaron que los parámetros de extracción influyen directamente en la recuperación de polifenoles y en la actividad antirradical determinada por DPPH. Por lo tanto, la respuesta intermedia observada en comino puede estar relacionada tanto con su composición como con la selectividad del sistema hidroalcohólico empleado.

El tomillo presentó la menor actividad antioxidante por ABTS y un valor bajo por DPPH. Este resultado puede estar asociado con la naturaleza de la biomasa utilizada, ya que en el presente estudio se empleó una mezcla de hojas y tallos. En *Thymus vulgaris* se han reportado compuestos fenólicos como ácido rosmarínico, ácido cafeico y flavonoides, los cuales contribuyen a su actividad antioxidante; sin embargo, la concentración de estos metabolitos puede variar dependiendo de la parte anatómica de la planta, el solvente utilizado y las condiciones de extracción. Walasek-Janusz et al., (2025) evaluaron extractos de partes aéreas de *T. vulgaris* y reportaron diferencias en el perfil fenólico y la actividad antioxidante, mientras que otros estudios en especies de *Thymus* han demostrado que la composición de metabolitos secundarios depende fuertemente de la matriz vegetal y del proceso extractivo. La presencia de tallos en la muestra podría haber reducido la proporción relativa de tejido foliar rico en compuestos antioxidantes, explicando parcialmente la menor respuesta observada.

La diferencia entre ABTS y DPPH también debe considerarse en la interpretación. El ensayo ABTS puede reaccionar con antioxidantes de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que DPPH suele presentar mayor sensibilidad hacia ciertos compuestos en medios orgánicos y puede responder de manera diferente según la estructura molecular del antioxidante. Por esta razón, la literatura recomienda utilizar varios métodos para evaluar extractos vegetales complejos, ya que cada ensayo posee diferente mecanismo de reacción, solubilidad y sensibilidad. En este trabajo, ambos métodos coincidieron en identificar a la pimienta negra como la matriz con mayor capacidad antioxidante, lo que fortalece su potencial como fuente de compuestos bioactivos. No obstante, ABTS permitió diferenciar estadísticamente las tres matrices, mientras que DPPH solo separó a pimienta de comino y tomillo.

En conjunto, los resultados indican que el sistema de extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación permitió recuperar compuestos con capacidad antioxidante en las tres matrices vegetales evaluadas. La pimienta negra presentó el mejor desempeño antioxidante global, posiblemente por la contribución combinada de piperina, compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios. El comino mostró una respuesta intermedia, coherente con su contenido fenólico y su potencial antioxidante reportado en la literatura. El tomillo presentó la menor actividad, probablemente influida por el uso de biomasa aérea compuesta por hojas y tallos. Estos resultados sugieren que la pimienta negra y el comino son las matrices más prometedoras para estudios posteriores de optimización, estabilidad y aplicación como ingredientes antioxidantes naturales en alimentos.

Con el propósito de evaluar si el contenido de fenoles totales se relacionó con la capacidad antioxidante de los extractos, se realizó un análisis exploratorio de correlación de Pearson de manera independiente para cada matriz vegetal. Este análisis se efectuó entre las variables FT, ABTS y DPPH, considerando las tres repeticiones disponibles para tomillo, comino y pimienta negra.

En el extracto de tomillo, no se observó asociación entre FT y ABTS ($r = -0.011$; $p = 0.993$), ni entre FT y DPPH ($r = -0.282$; $p = 0.818$). En contraste, la relación entre DPPH y ABTS presentó una correlación positiva alta ($r = 0.962$), aunque no significativa ($p = 0.175$). Este comportamiento sugiere que, dentro de las repeticiones de tomillo, la variación del contenido de fenoles totales no explicó directamente la capacidad antioxidante medida por los ensayos radicalarios. La tendencia positiva entre ABTS y DPPH podría indicar una respuesta antioxidante coincidente entre ambos métodos, pero debe interpretarse con cautela debido al bajo número de observaciones.

En el caso del comino, las correlaciones entre FT y los métodos antioxidantes fueron negativas, con valores de $r = -0.469$ para ABTS y $r = -0.886$ para DPPH; sin embargo, dichas asociaciones no fueron significativas ($p = 0.689$ y $p = 0.307$, respectivamente). Además, no se observó relación entre DPPH y ABTS ($r = 0.006$; $p = 0.996$). Estos resultados indican que, aunque el comino presentó el mayor contenido de fenoles totales entre las matrices evaluadas, las pequeñas variaciones internas de FT no se asociaron proporcionalmente con los cambios en la actividad antioxidante. Esto puede deberse a que el método de Folin-Ciocalteu estima la

capacidad reductora global del extracto, pero no distingue la identidad ni la reactividad específica de los compuestos responsables de la inhibición de radicales.

Para la pimienta negra, las correlaciones entre FT y ABTS ($r = -0.394$; $p = 0.742$) y entre FT y DPPH ($r = -0.298$; $p = 0.808$) fueron negativas y no significativas. De igual forma, la relación entre DPPH y ABTS fue negativa ($r = -0.760$; $p = 0.450$), sin significancia estadística. Este comportamiento sugiere que la actividad antioxidante de la pimienta negra no dependió únicamente del contenido de fenoles totales, sino posiblemente de otros metabolitos presentes en el fruto, como alcaloides, compuestos aromáticos, terpenoides o compuestos de polaridad intermedia, los cuales pueden reaccionar de forma diferente frente a los radicales $ABTS^{\bullet+}$ y DPPH.

En conjunto, el análisis por matriz vegetal mostró que no existieron correlaciones significativas entre FT, ABTS y DPPH dentro de cada especie. Esto indica que la relación entre los indicadores bioactivos depende no solo de la cantidad total de compuestos reductores, sino también de la naturaleza química de los metabolitos presentes en cada extracto. Asimismo, estos resultados explican por qué el comino presentó el mayor contenido de fenoles totales, mientras que la pimienta negra mostró la mayor capacidad antioxidante en los ensayos ABTS y DPPH.

Es importante señalar que las correlaciones fueron calculadas con tres repeticiones por matriz, por lo que deben considerarse como un análisis exploratorio y no como evidencia concluyente de asociación. Para establecer relaciones más robustas entre fenoles totales y capacidad antioxidante sería recomendable incrementar el número de repeticiones, evaluar diferentes concentraciones de extracto o complementar el análisis con la identificación de compuestos individuales mediante técnicas cromatográficas.

VII. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, enfocada en la obtención y caracterización de extractos hidroalcohólicos mediante extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación de *Cuminum cyminum*, *Piper nigrum* y *Thymus vulgaris*, se establecen las siguientes conclusiones:

En términos generales, los resultados obtenidos permiten aceptar parcialmente la hipótesis planteada. Los extractos hidroalcohólicos de comino, pimienta negra y tomillo presentaron diferencias importantes en su composición bioactiva y capacidad antioxidante, evidenciadas por el contenido de azúcares totales, fenoles totales y los ensayos ABTS y DPPH. El comino destacó por su mayor contenido de fenoles totales y azúcares solubles, mientras que la pimienta negra presentó la mayor capacidad antioxidante frente a los radicales ABTS^{•+} y DPPH. En contraste, el tomillo mostró la menor respuesta bioactiva, posiblemente influida por la presencia de tallos en la biomasa aérea procesada. No obstante, los sólidos solubles totales y el grado alcohólico residual fueron similares entre tratamientos, lo que indica que las diferencias entre matrices se manifestaron principalmente en la composición química específica y no en todos los parámetros fisicoquímicos generales. Por lo tanto, la matriz vegetal fue un factor determinante en el potencial antioxidante de los extractos obtenidos mediante extracción hidroalcohólica térmica acoplada a destilación.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Al-Khayri, J. M., Upadhyaya, V., Pai, S. R., Naik, P. M., Al-Mssallem, M. Q., & Alessa, F. M. (2022). Comparative quantification of the phenolic compounds, piperine content, and total polyphenols along with the antioxidant activities in the *Piper trichostachyon* and *P. nigrum*. *Molecules*, 27(18), 5965. <https://doi.org/10.3390/molecules27185965>
- Allaq, A. A., Sidik, N. J., Abdul-Aziz, A., & Ahmed, I. A. (2020). *Cuminum cyminum* L.: A review of its ethnopharmacology, phytochemistry. *Biomedical Research and Therapy*, 7(9), 4016–4021. <https://doi.org/10.15419/bmrat.v7i9.634>
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Nicolescu, A., Dias, M. I., Pinela, J., Barros, L., Añibarro-Ortega, M., Stojković, D., Carević, T., Mocan, A., López, V., & Crişan, G. (2023). *Thymus* species from Romanian spontaneous flora as promising source of phenolic secondary metabolites with health-related benefits. *Antioxidants*, 12(2), 390. <https://doi.org/10.3390/antiox12020390>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chauhan, K., & Rao, A. (2024). Clean-label alternatives for food preservation: An emerging trend. *Heliyon*, 10(16), e35815. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35815>
- Chizzola, R., Michitsch, H., & Franz, C. (2008). Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 6897–6904. <https://doi.org/10.1021/jf800617g>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Garner, D., Crisosto, C. H., Wiley, P., & Crisosto, G. M. (2008). Measurement of soluble solids content. University of California Agriculture and Natural Resources. <https://ucanr.edu/sites/default/files/2013-02/162033.pdf>
- Gutiérrez-del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2021). Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. *Antioxidants*, 10(8), 1264. <https://doi.org/10.3390/antiox10081264>

- Huamán-Castilla, N. L., Díaz Huamaní, K. S., Palomino Villegas, Y. C., Allcca-Alca, E. E., León-Calvo, N. C., Colque Ayma, E. J., Zirena Vilca, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2024). Exploring a sustainable process for polyphenol extraction from olive leaves. *Foods*, 13(2), 265. <https://doi.org/10.3390/foods13020265>
- Jaywant, S. A., Singh, H., & Arif, K. M. (2022). Sensors and instruments for Brix measurement: A review. *Sensors*, 22(6), 2290. <https://doi.org/10.3390/s22062290>
- Kaczorová, D., Karalija, E., Dahija, S., Bešta-Gajević, R., Parić, A., Čavar Zeljković, S., & Čavar, S. (2021). Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of selected medicinal plants. *Molecules*, 26(7), 1974. <https://doi.org/10.3390/molecules26071974>
- Kiss, A., Papp, V. A., Pál, A., Prokisch, J., Mirani, S., Toth, B. E., & Alshaal, T. (2025). Comparative Study on Antioxidant Capacity of Diverse Food Matrices: Applicability, Suitability and Inter-Correlation of Multiple Assays to Assess Polyphenol and Antioxidant Status. *Antioxidants*, 14(3), 317. <https://doi.org/10.3390/antiox14030317>
- Lee, J. E., Lee, B. J., Chung, J. O., & Lee, S. H. (2024). The influence of solvent choice on the extraction of bioactive compounds from plant matrices. *Foods*, 13(19), 3151. <https://doi.org/10.3390/foods13193151>
- Lemoni, Z., Tzima, K., & Oreopoulou, V. (2025). Incorporation of edible plant extracts as natural food preservatives: A review. *Foods*, 14(20), 3597. <https://doi.org/10.3390/foods14203597>
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I., & Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339(1), 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
- Mehane, L., Yahyaoui, M. I., Haddou, M., Elbouzidi, A., Loukili, E. H., Hammouti, B., Sabbahi, R., Horváth, G., Balázs, V. L., Széchenyi, A., & Asehraou, A. (2026). Comparative Analysis of Phytochemicals, Antioxidants, and Antimicrobial Activity in Essential Oils from *Cuminum cyminum* L. Leaves and Seeds. *Moroccan Journal of Chemistry*, 14(1), 368–391. <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v14i1.53818>
- Merah, O., Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Cerny, M., Grivot, S., Evon, P., & Hijazi, A. (2020). Biochemical composition of cumin seeds, and biorefining study. *Biomolecules*, 10(7), 1054. <https://doi.org/10.3390/biom10071054>
- Milenković, A., Stamenković, O. S., Veljković, V. B., & Ristić, M. S. (2025). The effect of extraction technique on the yield, extraction kinetics, and antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.) ethanolic extracts. *Horticulturae*, 11(2), 125. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae11020125>
- Nieto, G., Lorenzo, J. M., Ros, G., & Pateiro, M. (2023). Applications of plant bioactive compounds as replacers of synthetic additives in the food industry. *Foods*, 13(1), 47. <https://doi.org/10.3390/foods13010047>
- Pérez, M., Domínguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The chemistry behind the Folin-Ciocalteu method for the estimation of (poly)phenol content in food: Total phenolic

- intake in a Mediterranean dietary pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>
- Plaskova, A., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1118761. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1118761>
- Rahman, F., Easmin, S., Zaman, S., Haq, H., Ansary, R. H., Sharma, S. C. D., Murugesu, S., & Perumal, V. (2021). Antioxidant Screening of Various Solvent Extracts of *Cuminum cyminum* Cultivated in Bangladesh. *Science Journal of Chemistry*, 9(2), 54-61. <https://doi.org/10.11648/j.sjc.20210902.13>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rusaczzonek, A., Świdorski, F., & Waszkiewicz-Robak, B. (2007). Evaluation of phenolic compounds content and antioxidant capacity of herbs. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4A), 483–488.
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067–4079. <https://doi.org/10.1039/B922183M>
- Shamsiev, A., Park, J., Olawuyi, I. F., Odey, G., & Lee, W. (2021). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and antioxidants from cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Korean Journal of Food Preservation*, 28(4), 510–521. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2021.28.4.510>
- Singh, N., Yadav, S. S., Narashiman, B., & Dhiman, S. (2021). A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice *Cuminum cyminum* L. *Phytotherapy Research*, 35(9), 5007–5030. <https://doi.org/10.1002/ptr.7133>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., & Arzani, A. (2017). Composición del aceite esencial, contenido total de fenoles y flavonoides, y actividad antioxidante de especies de *Thymus* recolectadas en diferentes regiones de Irán. *Food Chemistry*, 220, 153-161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203>
- Walasek-Janusz, M., Papliński, R., Mysiak, B., & Nurzyńska-Wierdak, R. (2025). Phenolic profile and antioxidant activity of extracts from aerial parts of *Thymus vulgaris* L. and *Sideritis scardica* Griseb. *Applied Sciences*, 15(7), 3842. <https://doi.org/10.3390/app15073842>

- Wang, D., Xiao, H., Lyu, X., Chen, H., & Wei, F. (2023). Lipid oxidation in food science and nutritional health: A comprehensive review. *Oil Crop Science*, 8(1), 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2023.02.002>
- Waterman, P. G., & Mole, S. (1994). *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific.
- Xin, Z., Wang, W., Yang, W., Li, Y., Niu, L., & Zhang, Y. (2024). Investigation of volatile components and assessment of antioxidant potential in seven *Lamiaceae* plant hydrosols. *Molecules*, 29(1), 145. <https://doi.org/10.3390/molecules29010145>
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M.-R., Wang, X., Martínez, M., Anadón, A., & Martínez, M.-A. (2021). Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353, 129488. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
- Yang, C. S., Ho, C.-T., Zhang, J., Wan, X., Zhang, K., & Lim, J. (2018). Antioxidants: Differing Meanings in Food Science and Health Science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(12), 3063-3068. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05830>
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y., & Sayari, A. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 634–641. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.036>
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y., & Sayari, A. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 634–641. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.036>