

Potencial nutricional y capacidad antioxidante de harinas de *Ceratonia siliqua* cultivada en Coahuila

Carrillo-Vargas L.^{ab*} Caraveo Enríquez V.^b, Galván Calamaco Z.^a, Vargas González G.^a Ramírez Moreno A.^a, Guzmán Partida. A.M.^c, Ramos Clamont Montfort G.^c

^a Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos Orientados a la Salud. Carretera Torreón -Matamoros Km. 7.5. C.P. 27104 Torreón, Coahuila, México.

^b Universidad Iberoamericana Torreón. Coordinación de Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Calzada Iberoamericana 2255.C.P. 27420 Torreón, Coahuila, México.

^c Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Laboratorio de Función y Funcionalidad de Proteínas y Glicanos. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán No 46, Colonia la Victoria. C.P. 83304. Hermosillo, Sonora, México.

* gramos@ciad.mx.

RESUMEN

La algarroba o garrofa (*Ceratonia siliqua*), es una leguminosa (Fabaceae) originaria de la región del Mediterráneo cuya vaina tiene gran potencial para el desarrollo de alimentos funcionales. En América, los cultivos de esta planta son escasos. Para conocer el valor nutricional y capacidad antioxidante de *C. siliqua* cultivada en Coahuila se prepararon harinas a partir de la vaina entera (HE) y de la pulpa de vaina (HP) practicándose análisis proximal, contenido de Ca, K y Mg, contenido de fenoles, actividad antioxidante, color, espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR-ATR) y análisis microbiológico. Ambas harinas presentaron altos contenidos de fibra (≥ 29.12 g/100g), con aportes importantes de Ca y K. El contenido de proteína fue de 5.67 ± 0.72 y 3.84 ± 1.2 para HE y HP respectivamente, con una leve evidencia de esta diferencia en los espectros FTIR-ATR. El color de ambas harinas fue marrón ($L^* \approx 58$). Su contenido de fenoles fue relativamente alto (≈ 15 mg/g de harina) inhibiendo el 50% del radical DPPH⁺. La calidad microbiológica de ambas harinas fue excelente después de ocho meses de almacenamiento. Los resultados confirman el potencial de estas harinas como ingrediente para alimentos funcionales.

Palabras clave: Carob, algarrobo, vainas, semilla, proteína, fibra, calcio

ABSTRACT

Carob or garrofa (*Ceratonia siliqua*), is a leguminous tree (Fabaceae) native to the Mediterranean region whose pod has great potential for the development of functional foods. In America, carob crops of this plant are scarce. In order to know the nutritional value and antioxidant capacity of *C. siliqua* cultivated in Coahuila, flours were prepared from the whole pod (HE) and from the pod pulp (HP), performing proximal analysis, content of Ca, K and Mg, content of phenols, antioxidant activity, color, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and microbiological analysis. Both flours presented high fiber content (≥ 29.12 g/100g), with important contributions of Ca and K. The protein content was 5.67 ± 0.72 and 3.84 ± 1.2 for HE and HP, respectively, with slight evidence of this difference in the FTIR-ATR spectra. The color of both flours was brown ($L^* \approx 58$). Its phenolic content was relatively high (≈ 15 mg/g of flour) inhibiting 50% of the DPPH⁺ radical. The microbiological quality of both flours was excellent after eight months of storage. This results confirm the potential of these carob flours as an ingredient for functional foods.

Keywords: Carob, pods, seeds, protein, fiber, calcium

INTRODUCCIÓN

El árbol de Carob o algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.) se cultiva ancestralmente en las regiones Mediterráneas y del Egeo. Es una planta leguminosa muy resistente al calor y la sequía y a la alcalinidad y salinidad del suelo. Además, mejora la fertilidad de los suelos, por medio de la fijación de nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*. Este fenómeno también permite que los frutos de la planta, como el de otras leguminosas, tengan un mayor contenido de proteína, en comparación con los frutos de plantas no-leguminosas (Correia & Martins-Loução, 2005).

Los frutos del Carob son monocarpelares, polispermos, secos y dehiscentes en forma de vainas. Las vainas inmaduras son verdes, succulentas y muy astringentes; al madurar se tornan café oscuro aumentando significativamente su contenido de carbohidratos. Su forma es alargada, recta o semicurva, con un peso que varía entre 5 y 30 g de peso (Alsaed, & Alghzawi, 2000). Para usos en alimentos, las vainas se separan en pulpa y semilla. Los principales productores son, España (42 %), Italia (16 %), Portugal (10 %), Marruecos (8 %), Grecia (6,5 %), Chipre (5,5 %) y Turquía (4,8 %) (Brassesso *et al.*, 2021). En América existen cultivos en Argentina y Chile, sin embargo, la producción es local.

De la pulpa de la vaina se obtienen harinas para panificación y repostería libres de gluten y sustitutos de café. El endospermo de la semilla se utiliza industrialmente para la obtención de la goma de algarrobo (Locus bean) un galactomanano utilizado como aditivo alimentario por sus características espesantes y estabilizadoras (Brassesso *et al.*, 2021). La harina del germen de semilla puede llegar a contener hasta 50 % de proteína (Bengoechea *et al.*, 2008).

La composición química de la pulpa de *C. siliqua* depende del origen geográfico, las condiciones climáticas, la época de recolección y las condiciones de almacenamiento (Bernardo *et al.*, 2011). No obstante, se caracteriza por tener bajo contenido de lípidos y alto contenido de carbohidratos, minerales, proteínas, fibras dietéticas insolubles y ácido tánico (Goulas *et al.*, 2016). Recientemente, se ha llamado la atención sobre los efectos promotores de la salud de la pulpa de algarroba, tanto por su contenido de fibra dietética como de polifenoles, expresados por su actividad antioxidante (Roseiro *et al.*, 2013). El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química, calidad microbiológica y capacidad antioxidante de harinas de vainas de *Ceratonia siliqua* cultivadas en Torreón Coahuila esperando una composición y capacidad antioxidante similares a la reportadas para harinas de pulpa obtenidas en otros continentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y preparación de vainas de *C. siliqua*

Se realizaron dos colectas de vainas de *C. siliqua* muestreando ocho árboles en el campus de la Ibero Torreón Coahuila Coordenadas 25°36'37"N 103°24'05"O / 25.61020833, -103.40145. Los muestreos se llevaron a cabo en junio y julio del 2021. Las vainas se clasificaron, eliminando aquellas que estuvieran dañadas y se extendieron en un secador solar hasta que alcanzaron una humedad \leq a 8 %. Posteriormente, se molieron (Nbulet 900, Homeland Housewares, LLC, China) y tamizaron. Se obtuvieron dos tipos de harina, la procedente de la molienda de vainas enteras (HE) y aquella en la que únicamente se molió la pulpa (HP). Después de la molienda las harinas se envasaron en bolsas de plástico sellables permaneciendo a 4 °C hasta su posterior análisis.

Composición nutricia

El análisis proximal se llevó a cabo siguiendo las técnicas autorizadas por la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 2000). La humedad se determinó por el método de estufa de vacío (925.10), el contenido graso por el método de Soxhlet (920.39), la ceniza por el método de calcinación en mufla (923.03), la fibra dietética total (991.43) y la proteína por el método Micro Kjeldahl (920.87). Ca, Mg, Na y S se determinaron por Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA), utilizando un Espectrómetro de Absorción Atómica Agilent Technologies 240FS-AA (Santa Clara, CA, USA). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Actividad de agua y análisis de color

La actividad de agua (Aw) se determinó por triplicado a 25 °C con un aparato AQUALAB PAWKIT (España). El color de las harinas se determinó utilizando un colorímetro Konica Minolta CR-400/410 (Minolta, Japón) midiendo los parámetros L*, a* y b* donde L* representa la luminosidad; a* tendencia al rojo; b* tendencia a amarillo. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Contenido de fenoles

El contenido de fenoles totales se determinó espectrofotométricamente mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Asami *et al* (2003). Las concentraciones de compuestos fenólicos totales se determinaron en g/L de ácido gálico equivalente (GAE). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se obtuvo determinando la actividad de eliminación de radicales mediante el método de eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrasill) según Thaipong *et al.* (2006) con la modificación de usar etanol en lugar de metanol y un tiempo de reposo de 60 min. Los análisis se hicieron por triplicado

Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier y Reflexión Total Atenuada (FTIR-ATR)

El análisis de los grupos funcionales presentes en los componentes de las harinas se llevó a cabo mediante FTIR-ATR en un espectroscopio Cary 630 FTIR (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Se utilizó un rango espectral de 4000 a 650 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Los análisis se hicieron por triplicado graficando el promedio de las absorbancias obtenidas en cada réplica. Se utilizó el software SigmaPlot versión 11 para obtener los espectros. Se incluyó además el espectro obtenido a partir de la semilla de *C. silicua* molida

Análisis microbiológico

Para conocer la calidad microbiológica de las harinas se determinaron mesofílicos aerobios, hongos, levaduras según la NOM-110-SSA1-1994 (; *Staphylococcus aureus* en base a NOM-115-SSA1-1994 (COFEPRIS, 1995) , NOM-210-SSA1-2014 APENDICE B y *Salmonella* spp de acuerdo a la NOM-114-SSA1-1994, NOM-210-SSA1-2014 APENDICE A Los análisis se realizaron por duplicado. Los resultados fueron expresados como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994.

Análisis estadístico

Todos los análisis fueron por triplicado. Se presenta la estadística descriptiva (media y desviación estándar de los resultados). Se realizó un ANOVA de una vía y análisis de Tuckey para determinar diferencias ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición nutricia de las harinas

La tabla 1 muestra el análisis de composición de las harinas HE y HP. La humedad fue mayor a la humedad a la que se secaron las vainas (8%). Esto pudo ser debido a que la harina presentó un comportamiento higroscópico debido a su alto contenido de carbohidratos. La humedad fue mayor ($p < 0.05$) en las harinas que contenían la vaina completa, posiblemente por la presencia del endospermo donde se concentran galactomananos muy higroscópicos (Goulas *et al.*, 2016). Se esperaba que al incorporar la semilla a la harina el contenido de proteína aumentara significativamente, sin embargo, aunque se observó una tendencia al aumento, esta no fue significativa. Bravo *et al.* (1994) reportaron contenidos de proteína de 2.7 a 4.2 % en harinas de pulpa de *C. siliqua*, mientras que Carbas *et al.* (2019) encontraron concentraciones de 4.9 %. Una posible explicación de que no haya aumentado más la proteína en presencia de la semilla es la relación de peso pulpa/semilla (90/10).

El contenido de lípidos fue diferente en las dos harinas siendo mayor ($p < 0.05$) en las harinas de vainas enteras. Lo anterior puede deberse al aporte de grasa de la semilla en donde este componente está más concentrado para dar soporte a la planta en formación (Bengoechea *et al.*, 2008). No obstante, los resultados obtenidos se encuentran en el rango de los reportados anteriormente, confirmando que estas harinas tienen un bajo contenido graso (Bravo *et al.*, 1994).

Tabla 1. Composición nutricia de harinas de *Ceratonia siliqua*

Macronutrientes (g/100g de peso seco)		
Análisis	Harina de pulpa	Harina de vaina entera
Humedad	9.98± 1.3 ^b	12.3±0.2 ^a
Proteína	3.84±1.2 ^a	5.67±0.72 ^a
Lípidos	0.67±0.03 ^b	0.89±0.06 ^a
Fibra dietética total	30.1±0.16 ^a	29.12±0.59 ^a
Cenizas	3.3±0.22 ^a	3.26±0.15 ^a
Otros carbohidratos	52.11±1.22 ^a	48.76±1.56 ^a
Micronutrientes (mg/100g peso seco)		
Potasio	958±28 ^a	935±19 ^a
Calcio	322±12 ^a	318±16 ^a
Sodio	55±10 ^a	61±22 ^a
Magnesio	20±05 ^a	15±10 ^a

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos

El contenido de fibra dietética entra en el rango de los reportado para harinas de pulpa de vaina, aunque fue un poco menor que el encontrado por Carbas *et al.* (2019) quienes reportan valores de 47 %. Estas variaciones pueden deberse al estado de maduración del fruto o a diferencias geográficas (Bravo *et al.*, 1994). No obstante, el aporte de fibra de ambas harinas es importante y aunado al bajo contenido graso, presentan un potencial para el desarrollo de alimentos funcionales orientados a mejorar la salud intestinal y el síndrome metabólico (Carbas *et al.*, 2019). Referente al contenido de minerales se encontró que ambas harinas aportan cantidades importantes de potasio y calcio que se encontraron en el rango superior reportado por Ayaz *et al.* (2007), para vainas de *C. siliqua* colectadas en Turquía. El alto aporte de potasio y calcio pueden aprovecharse para el desarrollo de productos para deportistas y para prevención de osteoporosis. Sin embargo, tendría que analizarse la biodisponibilidad de estos minerales. Por otro lado, el contenido de magnesio fue menor al encontrado por Ayaz *et al.* (2007), quienes reportan valores de 60 mg/g de harina. Aunque la composición depende de la composición del suelo, es recomendable volver a realizar este análisis debido a la alta variabilidad de resultados.

Actividad de agua y análisis de color

La Aw de las harinas HE y HP fue de 0.46 ± 0.00 y 0.45 ± 0.01 , respectivamente. Por debajo de Aw de 0.6, se inhibe la actividad microbiana, por lo que se espera que ambas harinas tengan una amplia vida de anaquel. El color visual de las dos harinas fue marrón, las harinas de pulpa fueron ligeramente más claras y más amarillas ($L^* 58.54 \pm 0.21$; $a^* 2.89 \pm 0.02$; $b^* 25.38$) que las harinas que contenían la semilla ($L^* 58.54 \pm 0.21$; $a^* 2.89 \pm 0.02$; $b^* 25.38$). A pesar de su color marrón, la ausencia de gluten, el bajo contenido en grasa y alto en fibra hacen de estas harinas un buen candidato para la elaboración de panes y galletas funcionales.

Contenido de fenoles y actividad antioxidante

El contenido de fenoles de HP (15.8 ± 1.7 mg/g de harina) y HE (15.2 ± 2.0 mg/g de harina) fue menor que el reportado por Carbas *et al.* (2019) (17.7 mg/g de harina) para harinas de pulpa de *C. siliqua* procedentes de Turquía. Estas diferencias pueden ser geográficas (Ayaz *et al.*, 2007). No obstante, el contenido de fenoles encontrado es mayor que el reportado, por ejemplo, para harinas de mezquite, cuyos valores se encuentran entre 0.06 y 0.14 mg/g de harina (Carbas *et al.*, 2019). El alto contenido de fenoles de las harinas estudiadas les imparte potencial para el desarrollo de productos funcionales antioxidantes ya que el valor de DPPH encontrado fue de 53.1 ± 0.2 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ y 52.1 ± 0.9 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ para las harinas de pulpa y enteras, respectivamente.

Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (FTIR-ATR)

Este análisis se realizó con el objeto de detectar en las harinas de vaina entera, una mayor presencia de grupos funcionales que comúnmente se encuentran en la proteína, como son las regiones de las amidas I, II y III. Para ello, también se obtuvo el espectro de harina obtenida exclusivamente de semillas de *C. siliqua*. La figura 1 compara los tres espectros. Los espectros de la harina de semilla y la harina de pulpa son similares a los presentados por Christou *et al.* (2018) para harinas de semilla y de pulpa obtenidas en diferentes lugares de Chipre. En la figura 1 se marca la región de la huella dactilar de los carbohidratos, la cual se presenta entre los números de onda de 1800 y 600 cm^{-1} ; destaca la complejidad de los carbohidratos en los espectros de harina entera y harina de pulpa, mientras que en la harina de semilla las señales son más simples. En la región entre 1600 y 1500 cm^{-1} se encuentran las señales de la amida I y amida II típicas de la proteína, las cuales fueron muy evidentes en la harina de semilla, mientras que se encuentran traslapadas con las señales de carbohidratos en las harinas de pulpa y las enteras. No obstante, en estas últimas harinas pueden apreciarse señales ligeramente más fuertes (ver flechas) que podrían estar indicando la presencia adicional de las proteínas aportadas por la semilla. Lo mismo ocurre al comparar los espectros de

pulpa y semilla entera en la región de la amida III. Estos resultados podrían demostrar la presencia de semilla en las harinas.

Análisis Microbiológico

Los resultados de los análisis microbiológicos de las harinas mostraron la efectividad de la aplicación de las buenas prácticas de manufactura indicando la ausencia de *S. aureus*, *Salmonella* spp y coliformes. Tampoco se detectó la presencia de hongos ni de levaduras. Es recomendable complementar estos estudios con estudios de vida de anaquel acelerada para estimar la vida útil de estas harinas a diferentes condiciones de temperatura.

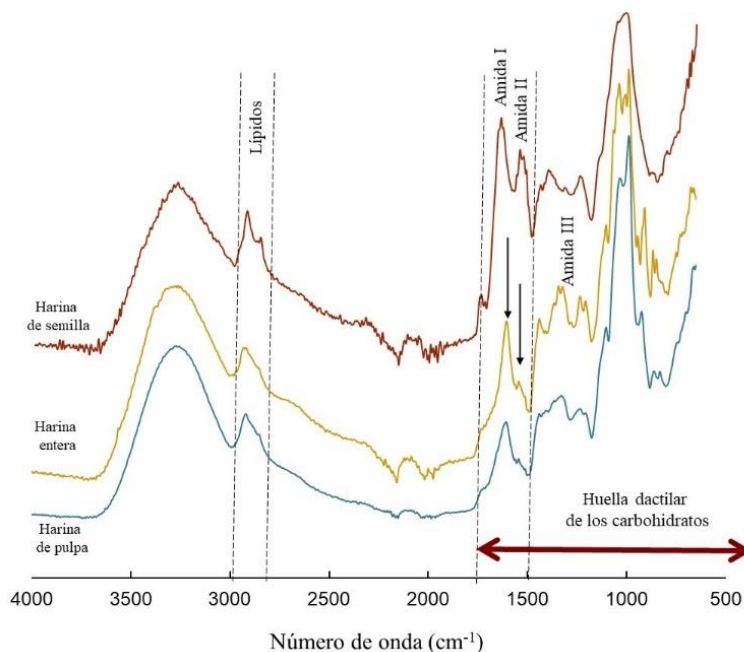


Figura 1. Comparación de los espectros FTIR-ATR de harinas de pulpa, vaina entera y semilla de *C. silicua*.

Tabla 2. Análisis microbiológico de harina de pulpa de *C. silicua*

Análisis	Resultado	Referencia	Fecha análisis
Mesofílicos	<100 UFC/g bacterias aerobias en placa	NOM-092-SSA1-1994	14/04/2022
Coliformes	Sin desarrollo	NOM-113-SSA1-1994	14/04/2022
Hongos y levaduras	0 UFC/g mohos y levaduras en placa	NOM-111-SSA1-1994	14/04/2022
<i>S. aureus</i>	<100 UFC/ml	NOM-210-SSA1-2014 APENDICE B	14/04/2022
PATÓGENOS			
<i>Salmonella</i> spp	<i>Salmonella</i> spp. En 25 g AUSENCIA	NOM-210-SSA1-2014 APENDICE A	14/04/2022

Los análisis se realizaron por duplicado

Tabla 3. Análisis microbiológico de harina de vaina entera *C. silicua*

Análisis	Resultado	Referencia	Fecha análisis
Mesofílicos	<100 UFC/g bacterias aerobias en placa	NOM-092-SSA1-1994	14/04/2022
Coliformes	Sin desarrollo	NOM-113-SSA1-1994	14/04/2022
Hongos y levaduras	0 UFC/g mohos y levaduras en placa	NOM-111-SSA1-1994	14/04/2022
<i>S. aureus</i>	<100 UFC/ml	NOM-210-SSA1-2014 APENDICE B	14/04/2022
PATÓGENOS			
<i>Salmonella</i> spp	<i>Salmonella</i> spp. En 25 g AUSENCIA	NOM-210-SSA1-2014 APENDICE A	14/04/2022

Los análisis se realizaron por duplicado

CONCLUSIÓN

Las harinas de vaina entera y pulpa de vaina de *C. siliqua* mostraron altos contenidos de fibra, fenoles, potasio y calcio lo que las hacen candidatas para el desarrollo de alimentos funcionales que exploten los beneficios de estos nutrientes. La adición de la semilla a la harina no contribuyó significativamente al aporte de proteína, el cual, se considera bajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alsaed, A., & Alghzawi, H. M. (2000). Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*, 69, 283-287.
- Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., & Mitchell, A. E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *J Agric Food Chem*, 51(5), 1237-1241.
- Ayaz, F. A., Torun, H., Ayaz, S., Correia, P., Alaiz, M., Sanz, C., & GrÚZ, J. (2007). Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): Sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality*, 30, 1040-1055
- Bengoechea, C., Romero, A., Villanueva, A., Moreno, G., Alaiz, M., Millán, F., Puppo, M. C. (2008). Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chemistry*, 107(2), 675-683.
- Bernardo Gila, M., Roquea, R., Roseiro, L., Duarte, L., Gíriob, F., & Esteves, P. (2011). Supercritical extraction of carob kibbles (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Supercritical Fluids The*, 59, 36-42.
- Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., & Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*, 100(4), 1453-1455.
- Brassesco, M. E., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M., & Pintado, M. (2021). Carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): A new perspective for functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 310
- Bravo, L., Grades, N., & Saura-Calixto, F. (1994). Composition and potential uses of mesquite pods (*Prosopis pallida* L): Comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65(3), 303-306.
- Carbas, B., Salinas, M. V., Serrano, C., Passarinho, J. A., Puppo, M. C., Ricardo, C. P., & Brites, C. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of commercial flours from *Ceratonia*

- siliqua and Prosopis spp. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 305-311.
- Correia, P. J., & Martins-Loução, M. A. (2005). The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob-tree. *Field Crops Research*, 91(1), 1-6.
- Christou, C., Agapiou, A., & Kokkinofa, R. (2018). Use of FTIR spectroscopy and chemometrics for the classification of carobs origin. *Journal of Advanced Research*, 10, 1-8.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 669-675. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>