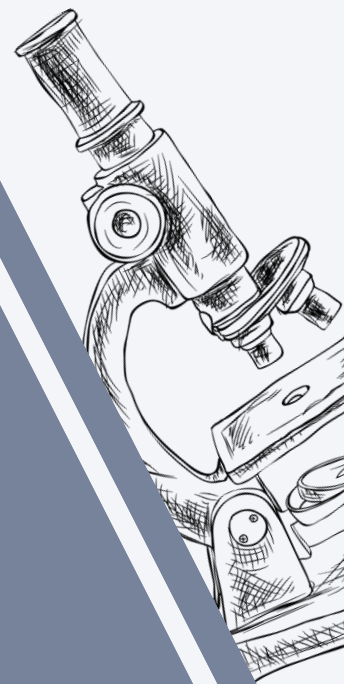
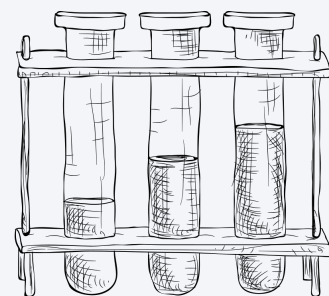
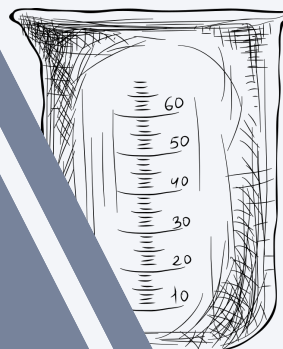
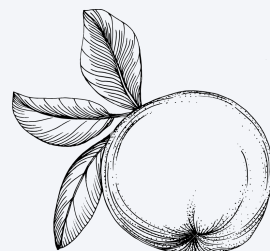
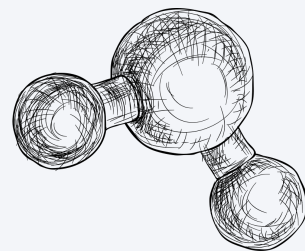
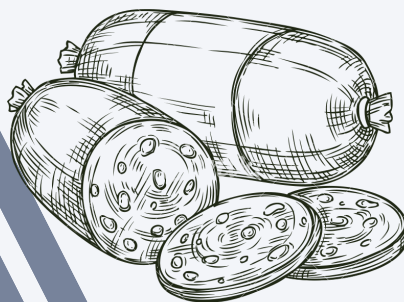


Vol.11 No. 2

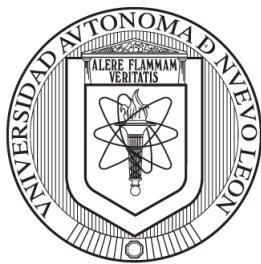
ISSN: 2448-7503

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos



Publicado en junio de 2026

Publicación semestral



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN®

**Una publicación de la
Universidad Autónoma de Nuevo León**

Dr. En Med. Santos Guzmán López
Rector

Dr. Mario Alberto Garza Castillo
Secretario General

Dr. Jaime Arturo Castillo Elizondo
Secretario Académico

Mtro. Mario Emilio Gutiérrez Caballero
Abogado General de la UANL

Dr. José Javier Villarreal Álvarez Tostado
Secretario de Extensión y Cultura

Lic. Antonio Ramos Revillas
Dirección de Editorial Universitaria

Dra. Diana Reséndez Pérez
Coordinadora de la Facultad de Ciencias Biológicas

Dr. Juan Gabriel Báez González
idcyta@uanl.mx
Editor responsable

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Vol. 11 No. 1, marzo 2026, es una publicación semestral editada y publicada por la Universidad Autónoma de Nuevo León, a través de la Facultad de Ciencias Biológicas. Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Difusión vía red de cómputo https://idcyta.uanl.mx/index.php/i_idcyta@uanl.mx. Editor responsable: Dr. Juan Gabriel Báez González.

Número de reserva de derechos al uso exclusivo del título *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* otorgada por el Instituto Nacional del Derecho de Autor: 04-2024-011513431400-102, de fecha 15 de enero de 2024.

ISSN 2448-7503.

Fecha de la última modificación, junio de 2026.

Las opiniones y contenidos expresados en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores y no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación

Esta publicación en su integridad y los derechos contenidos en ella, están protegidos por la Ley Federal de Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial por lo que no podrá ser reproducida con fines comerciales sin autorización del editor. Asimismo, queda prohibido cualquier uso

sobre esta publicación, sea total o parcialmente, con fines de entrenamiento de cualquier clase de inteligencia artificial, minería de datos y textos incluyendo, pero no limitado a la generación de publicación de obras derivadas o contenidos basados total o parcialmente en esta publicación y cualquiera de sus partes pertenecientes a la Universidad Autónoma de Nuevo León, a través de la Facultad de Ciencias Biológicas. Las violaciones a estas disposiciones constituyen una infracción en materia de comercio, derechos de autor y un delito.

Desarrollo de kéfir de soya (*Glycine max*) como alternativa fermentada funcional y estrategia de fortalecimiento productivo para mujeres artesanas de Guanajuato, México

Development of soy kefir (*Glycine max*) as a functional fermented alternative and productive strengthening strategy for artisan women of Guanajuato, Mexico

Jesús Alberto Sánchez Valtierra

jesanchez@uveg.edu.mx

<https://orcid.org/0009-0005-7198-1197>

Universidad Virtual del Estado de Guanajuato, México

RESUMEN:

El kéfir es una bebida fermentada reconocida por su compleja microbiota simbiótica y sus beneficios nutricionales y funcionales. El presente estudio tuvo como objetivo desarrollar y evaluar experimentalmente un kéfir de soya (*Glycine max*) como alternativa productiva potencial para mujeres artesanas rurales de Guanajuato, México. Se elaboró kéfir de soya con granos de kéfir caracterizados morfológicamente ($n = 3$ repeticiones experimentales), durante 24 h a 25 °C. Los parámetros fisicoquímicos mostraron reducción significativa del pH (6.7 ± 0.1 a 4.5 ± 0.2 ; $p < 0.001$), incremento de acidez titulable y reducción de °Brix, confirmados mediante prueba t de Student pareada. El recuento microbiano alcanzó 1.2×10^8 UFC/mL de bacterias ácido-lácticas y 3.4×10^6 UFC/mL de levaduras. La evaluación sensorial ($n = 30$) reportó aceptación global de 7.8 ± 0.3 en escala hedónica de nueve puntos. El modelo productivo presentó un costo estimado de \$19.80 MXN por litro, con alta percepción de viabilidad comercial entre las participantes. Se concluye que el kéfir de soya es una alternativa tecnológica viable, funcional y socialmente pertinente bajo condiciones semiartesanales controladas.

Palabras clave: kéfir de soya; fermentación; soya; alimentos funcionales; desarrollo rural.

ABSTRACT:

Kefir is a fermented beverage recognized for its complex symbiotic microbiota and its nutritional and functional benefits. The present study aimed to develop and experimentally evaluate a soy-based kefir (*Glycine max*) as a potential productive alternative for rural artisan women in Guanajuato, Mexico. Soy kefir was produced using morphologically characterized kefir grains ($n = 3$ experimental replicates) and fermented for 24 h at 25 °C. Physicochemical parameters showed a significant reduction in pH (6.7 ± 0.1 to 4.5 ± 0.2 ; $p < 0.001$), an increase in titratable acidity, and a decrease in °Brix, confirmed through a paired Student's t-test. Microbial counts reached 1.2×10^8 CFU/mL of lactic acid bacteria and 3.4×10^6 CFU/mL of yeasts. Sensory evaluation ($n = 30$) reported an overall acceptance score of 7.8 ± 0.3 on a nine-point hedonic scale. The production model showed an estimated cost of \$19.80 MXN per liter, with a high perceived level of commercial feasibility among participants. It is concluded that soy kefir represents a technologically viable, functional, and socially relevant alternative under controlled semi-artisanal conditions.

Keywords: soy kefir; fermentation; soybean; functional foods; rural development.

INTRODUCCIÓN

El kéfir es un sistema fermentativo complejo formado por bacterias ácido-lácticas (BAL), levaduras y bacterias ácido-acéticas organizadas en una matriz polisacárida simbiótica conocida como kefirán, capaz de transformar diversos sustratos en alimentos funcionales (Cheng et al., 2024; Tingirikari et al., 2024). Tradicionalmente producido a partir de leche animal, su adaptación a matrices vegetales responde a tendencias globales relacionadas con sostenibilidad, salud y diversificación alimentaria (Apalowo et al., 2024).

La leche de soya representa una alternativa tecnológica relevante debido a su elevado contenido proteico (3.0–3.5%), presencia de isoflavonas con actividad estrogénica y antioxidante, y ausencia de lactosa, lo que amplía su consumo a poblaciones vegetarianas e intolerantes a productos lácteos (Jurado Salazar, 2025). No obstante, la fermentación en matrices vegetales implica desafíos microbiológicos derivados de la ausencia de lactosa como sustrato energético principal, lo que puede modificar la dinámica de crecimiento y la composición del consorcio microbiano (Karaçalı et al., 2018).

La diversidad microbiológica del kéfir se adapta al sustrato fermentado, modificando perfiles nutricionales y sensoriales (Ströher et al., 2025). Se ha demostrado que géneros como *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. y

Kluyveromyces spp. pueden utilizar oligosacáridos de soya como fuente alternativa de carbono, aunque con tasas de crecimiento menores que en sustratos lácteos (Karaçali et al., 2018). La producción artesanal de kéfir ha emergido paralelamente como alternativa económica local con potencial de impacto social (Bresciani et al., 2024).

En el estado de Guanajuato, las mujeres artesanas enfrentan desafíos estructurales relacionados con precariedad laboral, brecha salarial de género y dificultad para conciliar la vida productiva y reproductiva (Del Carpio et al., 2024; Valdez Bocanegra et al., 2025). La transferencia de tecnologías alimentarias de bajo costo puede representar una vía de fortalecimiento económico comunitario que no requiere infraestructura especializada.

Aunque existen estudios sobre fermentación de matrices vegetales mediante kéfir, la mayoría se ha centrado exclusivamente en la caracterización fisicoquímica o microbiológica del producto. Son limitadas las investigaciones que integran simultáneamente la validación tecnológica del proceso con su implementación como estrategia productiva comunitaria en contextos rurales latinoamericanos.

En este sentido, el presente estudio propone un enfoque integrador que articula evaluación experimental del kéfir de soya y análisis de su viabilidad socio-productiva con perspectiva de género. En consecuencia, persiste una brecha investigativa en la integración simultánea entre validación experimental del proceso fermentativo y evaluación de su aplicabilidad socio-productiva en contextos rurales latinoamericanos.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar y evaluar un kéfir de soya mediante fermentación artesanal controlada, analizando sus características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y su viabilidad como modelo productivo comunitario con perspectiva de género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El estudio se desarrolló bajo un diseño experimental aplicado con enfoque tecnológico-social, ejecutado en condiciones semiartesanales controladas. El esquema metodológico correspondió a un diseño pre-post de un solo grupo (before-after design), empleado para evaluar los cambios inducidos por el proceso fermentativo sobre las variables fisicoquímicas del sistema.

Se realizaron tres repeticiones independientes del proceso de fermentación ($n = 3$), efectuándose dos mediciones por réplica para cada parámetro evaluado. El diseño consideró un único grupo experimental con mediciones antes y después de la fermentación, cuyos resultados fueron analizados mediante prueba t de Student para muestras pareadas, con el propósito de determinar diferencias significativas atribuibles al tratamiento fermentativo bajo condiciones controladas.

El tamaño de muestra experimental ($n = 3$) se estableció conforme a diseños exploratorios de fermentación artesanal reportados en estudios preliminares de matrices vegetales.

Selección y caracterización de los granos de kéfir

Los granos de kéfir utilizados procedieron de una cepa artesanal mantenida en leche de vaca entera por productoras locales de Irapuato, Guanajuato, con más de cinco años de propagación continua. Previamente a su adaptación, los granos fueron lavados con agua estéril con el fin de eliminar residuos del medio de cultivo previo.

Antes del experimento, se realizó su caracterización morfológica, observándose color blanco-amarillento, textura gelatinosa irregular, diámetro promedio de 0.8–1.2 cm y una relación superficie/volumen característico de granos metabólicamente activos. Posteriormente, los granos fueron activados en leche de soya durante 48 h a 20 °C antes de su utilización como inóculo, conforme al protocolo de adaptación descrito por Karaçali et al. (2018). La concentración bacteriana inicial de los granos, estimada previamente a su activación en leche de soya, fue de aproximadamente $1.0\text{--}5.0 \times 10^6$ UFC/mL conforme a lo reportado por dichos autores para cepas artesanales adaptadas, alcanzando al término de la fermentación 1.2×10^8 UFC/mL, lo que representa un incremento de entre 24 y 120 veces respecto al inóculo inicial. Este crecimiento es consistente con lo documentado por Karaçali et al. (2018), aunque inferior al reportado en sustratos lácteos convencionales, donde las BAL pueden alcanzar 10^9 UFC/mL bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura, debido a la mayor disponibilidad de lactosa como sustrato energético. La tasa de crecimiento microbiano observada en la leche de soya —estimada entre el 2,300 y el 11,900% respecto al inóculo inicial— confirma la capacidad de adaptación

metabólica del consorcio kefirico a oligosacáridos de soya (rafinosa, estaquiosa) como fuentes alternativas de carbono, si bien con una eficiencia fermentativa moderada en comparación con los sistemas lácteos.

No se realizó identificación molecular de la microbiota debido a las condiciones operativas del laboratorio artesanal; sin embargo, este análisis se plantea como línea futura de investigación orientada a la caracterización microbiológica avanzada del consorcio fermentativo.

Proceso participativo con mujeres artesanas

Participaron 12 mujeres artesanas del municipio de Irapuato, Guanajuato, seleccionadas mediante convocatoria abierta a través de redes sociales. Los criterios de inclusión fueron: ser mujer mayor de 18 años, contar con actividad artesanal documentada y disponibilidad de tiempo (mínimo 6 h semanales durante el periodo del proyecto). Se realizaron cuatro sesiones de capacitación-producción de tres horas cada una, en las que las participantes elaboraron el kéfir de soya siguiendo el protocolo establecido. Al término del proceso, se aplicó una encuesta de percepción (escala Likert 1–5) sobre facilidad de aprendizaje, costo de producción y potencial comercial. El estudio contó con consentimiento informado de todas las participantes.

Preparación de la leche de soya

1. Remojo de granos de soya (*Glycine max* var. Williams) en agua potable durante 12 h a temperatura ambiente.
2. Molienda húmeda (relación 1:6 p/v soya:agua) y filtración mediante manta de cielo doble.
3. Ajuste de sólidos totales al 11% (p/v) por refractometría.
4. Tratamiento térmico a 95 °C durante 10 min para inactivación de inhibidores de tripsina y lipoxigenasa.
5. Enfriamiento a 25 °C antes de la inoculación.

Proceso de fermentación

Las condiciones de fermentación fueron: inóculo de granos de kéfir adaptados al 5% p/v, temperatura de 25 ± 1 °C (incubadora de temperatura controlada), tiempo de 24 h y modalidad estática. El proceso se realizó por triplicado en recipientes de vidrio de 500 mL previamente esterilizados en autoclave (121 °C, 15 min).

Análisis fisicoquímicos

Se determinaron: pH mediante potenciometría (pH-metro Hanna HI98130, calibrado con buffer pH 4.0 y 7.0); acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico (titulación con NaOH 0.1 N, indicador fenoltaleína); sólidos solubles totales por refractometría (°Brix); y proteína cruda por el método Kjeldahl (factor de conversión 6.25), según la AOAC (2019).

Análisis microbiológicos

Se realizaron en medio agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) a 37 °C durante 48 h en condiciones de anaerobiosis para recuento de BAL, y agar DRBC (Dichloran Rosa de Bengala Cloranfenicol) a 25 °C durante 5 días para levaduras viables. Las diluciones decimales se prepararon en solución salina 0.85%. La metodología siguió los protocolos de Oros, Góngora, et al. (2019). Los resultados se expresaron como UFC/mL (media de tres réplicas).

Evaluación sensorial

Se realizó con un panel semientrenado integrado por 30 participantes voluntarios (14 mujeres, 16 hombres; edad promedio 28.4 ± 6.1 años), sin alergias a soya ni condición que afectara la percepción sensorial. Se evaluaron sabor, aroma, textura y aceptación global mediante escala hedónica estructurada de nueve puntos (1 = me disgusta extremadamente; 9 = me gusta extremadamente), con muestras servidas a 8 °C en vasos codificados de 30 mL, con agua entre muestras.

Análisis estadístico

Los datos fisicoquímicos se analizaron mediante prueba *t* de Student para muestras pareadas (inicio vs. final de fermentación), con nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Se reportan medias ± desviación estándar. La verificación del supuesto de normalidad se realizó con la prueba de Shapiro-Wilk. Los resultados sensoriales se reportan como media ± DE. El análisis se realizó con el software estadístico R v.4.3.2 (R Core Team, 2023).

Análisis de costos de producción

Se estimaron los costos directos de producción por litro de kéfir de soya considerando insumos (soya, agua, energía), amortización de equipo básico, y mano de obra valuada al salario mínimo vigente en México (2024: \$248.93 MXN/día). Los precios de insumos corresponden a cotizaciones en mercado local de Irapuato, Guanajuato.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cambios fisicoquímicos durante la fermentación

Los parámetros fisicoquímicos registrados antes y después del proceso fermentativo se presentan en la Tabla 1, junto con el análisis estadístico correspondiente (Tabla 2). La prueba t de Student pareada confirmó diferencias significativas ($p < 0.001$) en pH, acidez titulable y °Brix, mientras que el contenido proteico no mostró cambios significativos ($p = 0.612$).

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del kéfir de soya antes y después de la fermentación (media $\pm$ DE, $n = 3$).

Parámetro	Inicial	Final	Valor p
pH	6.7 ± 0.1	4.5 ± 0.2	<0.001
Acidez (% ác. láctico)	0.12 ± 0.01	0.78 ± 0.05	<0.001
°Brix	10.2 ± 0.3	7.1 ± 0.4	<0.05
Proteína (%)	3.1 ± 0.2	3.0 ± 0.1	0.612 ns

ns = no significativo ($p \geq 0.05$). Análisis por prueba t de Student pareada, $\alpha = 0.05$.

Tabla 2 Análisis de varianza (ANOVA de una vía) de los parámetros fisicoquímicos.

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	Valor p
pH — Tiempo	9.88	1	9.88	246.2	$<0.001^*$
Acidez — Tiempo	0.443	1	0.443	311.4	$<0.001^*$
°Brix — Tiempo	14.52	1	14.52	128.8	$<0.001^*$
Proteína — Tiempo	0.005	1	0.005	0.29	0.612 ns

SC = Suma de cuadrados; gl = grados de libertad; CM = Cuadrado medio. $*p < 0.05$; ns = no significativo.

El empleo simultáneo de prueba t pareada y ANOVA de una vía permitió corroborar la consistencia del efecto temporal desde enfoques estadísticos complementarios. El ANOVA se empleó como análisis confirmatorio del efecto temporal observado mediante prueba t pareada.

La reducción del pH de 6.7 ± 0.1 a 4.5 ± 0.2 confirma la actividad metabólica activa del consorcio microbiano sobre el sustrato vegetal, mediante la producción de ácidos orgánicos —principalmente ácido láctico y acético— a partir de los carbohidratos disponibles en la leche de soya (rafinosa, estaquiosa y sacarosa). Este comportamiento es consistente con lo reportado por Karaçali et al. (2018) en fermentación de soya con kéfir, aunque los tiempos de acidificación reportados por dichos autores fueron ligeramente mayores (28–30 h), posiblemente por diferencias en la composición del inóculo o en la temperatura de fermentación.

El pH final alcanzado (4.5) fue ligeramente superior al reportado en sistemas lácteos tradicionales (≈ 4.2), lo cual podría atribuirse a la menor disponibilidad de azúcares fermentables en matrices vegetales y a diferencias en la actividad metabólica del consorcio microbiano adaptado a soya. Este comportamiento sugiere una cinética fermentativa moderada característica de sustratos no lácteos.

La reducción de °Brix (de 10.2 a 7.1) refleja el consumo de carbohidratos solubles por parte de los microorganismos, fenómeno esperado en sistemas fermentativos con sustratos oligosacáridos.

El contenido proteico se mantuvo estadísticamente estable ($p = 0.612$), aunque es razonable suponer que ocurrió hidrólisis proteica parcial —generando péptidos de menor peso molecular— sin reducción neta de nitrógeno

total medido por Kjeldahl; este fenómeno ha sido documentado en fermentaciones de soya con lactobacilos (Apalowo et al., 2024) y constituye una línea de investigación complementaria que requeriría análisis de electroforesis o cromatografía para su verificación en futuros estudios.

Recuento microbiano

Los resultados del recuento al término de la fermentación se presentan en la Tabla 3. Las BAL alcanzaron 1.2×10^8 UFC/mL y las levaduras viables 3.4×10^6 UFC/mL.

Tabla 3. Recuento microbiano al final del proceso de fermentación (media de n = 3 réplicas).

Microorganismo	UFC/mL final
Bacterias ácido-lácticas (BAL)	1.2×10^8
Levaduras viables	3.4×10^6

UFC = Unidades Formadoras de Colonias. Medios: agar MRS (BAL) y agar DRBC (levaduras).

Estos valores cumplen los rangos internacionales para kéfir artesanal funcional (BAL $\geq 10^7$ UFC/mL; levaduras $\geq 10^4$ UFC/mL) reportados por Bresciani et al. (2024).

La viabilidad de ambos grupos microbianos en el sustrato vegetal demuestra la capacidad de adaptación metabólica del consorcio simbiótico, fenómeno documentado en revisiones globales de la microbiota del kéfir (Ströher et al., 2025). La proporción BAL:levaduras observada (~35:1) es característica de kéfir funcional y favorece un perfil organoléptico equilibrado.

La identificación a nivel de especie mediante secuenciación del gen 16S ARNr (para BAL) e ITS (para levaduras) se propone como objetivo de estudios posteriores bajo condiciones de laboratorio equipado, lo que permitiría determinar si géneros como *Lactobacillus kefirifaciens*, *Leuconostoc mesenteroides* o *Kluyveromyces marxianus* —frecuentes en kéfir artesanal latinoamericano (Ströher et al., 2025)— están presentes en este consorcio. Valores comparables a los reportados en kéfir vegetal fermentado a escala piloto.

Evaluación sensorial

Los resultados sensoriales se presentan en la Tabla 4. Todos los atributos superaron el umbral de 7.0 puntos, indicando aceptación favorable del producto.

Las muestras se evaluaron mediante diseño monádico secuencial con orden de presentación aleatorizado para minimizar sesgos de posición.

Tabla 4. Evaluación sensorial del kéfir de soya mediante escala hedónica (1–9). Media $\pm$ DE (n = 30).

Atributo	Media $\pm$ DE (1–9)
Sabor	7.6 ± 0.4
Aroma	7.2 ± 0.6
Textura	7.4 ± 0.5
Aceptación global	7.8 ± 0.3

La aceptación global de 7.8 ± 0.3 es relevante considerando que la leche de soya sin fermentar presenta sabores residuales indeseables atribuidos a la actividad de lipoxigenasa y a la presencia de aldehídos de cadena corta.

La fermentación ácida redujo significativamente estos compuestos mediante acidificación del medio e inhibición enzimática, en concordancia con Karaçalı et al. (2018). El atributo con menor puntuación fue el aroma (7.2 ± 0.6), lo que sugiere la posibilidad de incorporar aromatizantes naturales (como vainilla o canela) para mejorar la aceptación en mercados más amplios.

Proceso participativo y percepción de las productoras

Las 12 mujeres artesanas que participaron en el proceso de capacitación-producción completaron las cuatro sesiones programadas (tasa de retención: 100%).

Los resultados de la encuesta de percepción (escala Likert 1–5) indicaron: facilidad de aprendizaje del proceso 4.6 ± 0.5 ; percepción de bajo costo de producción 4.4 ± 0.7 ; potencial de comercialización local 4.8 ± 0.4 ; intención de continuar produciendo 4.9 ± 0.3 .

Estos hallazgos son coherentes con la experiencia documentada en Brasil por Ströher et al. (2024), donde grupos de mujeres productoras de kéfir artesanal reportaron alta satisfacción con la actividad y capacidad de generar ingresos complementarios.

Desde la perspectiva del desarrollo rural con enfoque de género, la producción artesanal de alimentos fermentados cumple condiciones favorables para contextos de vulnerabilidad laboral femenina: bajo umbral de inversión inicial, proceso técnico fácil de aprender sin escolaridad avanzada, posibilidad de integrarse al ciclo doméstico sin abandono de otras actividades, y mercado local con demanda creciente de alimentos funcionales (Del Carpio et al., 2024; Valdez Bocanegra et al., 2025).

El estudio se desarrolló conforme a principios éticos de investigación social aplicada, garantizando participación voluntaria, consentimiento informado y confidencialidad de la información. Debido a su carácter formativo y no clínico, no requirió evaluación por comité de ética institucional.

Viabilidad económica del modelo productivo

La Tabla 5 presenta el análisis de costos estimados de producción por litro de kéfir de soya bajo condiciones artesanales en el contexto de Irapuato, Guanajuato.

Tabla 5. Estimación de costos de producción por litro de kéfir de soya (precios de mercado local, Irapuato, Gto., 2024).

Insumo / concepto	Costo unitario (MXN)	Costo por litro (MXN)
Soya (granos secos, 150 g)	\$18.00 / kg	\$2.70
Granos de kéfir (reutilizables)	Amortización \$0.50	\$0.50
Agua potable y energía	Estimado	\$1.80
Recipiente de vidrio (amortización)	\$0.30	\$0.30
Mano de obra (1 h a salario mínimo)	\$14.50 / h	\$14.50
Costo total de producción / litro		\$19.80

Salario mínimo 2024 (zona libre de la frontera norte excluida): \$248.93 MXN/día (\$31.12/h).

Con un costo de producción estimado de \$19.80 MXN por litro, el producto tiene un amplio margen de rentabilidad considerando que bebidas funcionales fermentadas similares se comercializan en el mercado local entre \$45 y \$80 MXN por litro.

Este diferencial representa un margen bruto potencial de 127–304%, suficiente para cubrir costos indirectos y generar ingreso neto. No obstante, se deberán contemplar aspectos regulatorios: en México, los alimentos fermentados artesanales para venta al público requieren registro ante la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), cumplimiento de la NOM-243-SSA1-2010 (leche y productos de leche) y, en caso de hacerse la distinción de "leche vegetal", declaración nutrimental conforme a NOM-051-SCFI/SSA1-2010. La orientación regulatoria para productoras artesanales debe contemplarse en fases posteriores del proyecto.

Un análisis de sensibilidad estimado indica que variaciones de $\pm 10\%$ en el costo de la soya modificarían el costo final únicamente en ± 0.27 MXN/L, evidenciando estabilidad económica del modelo productivo frente a fluctuaciones moderadas del mercado. El análisis no consideró costos de distribución, etiquetado ni certificación sanitaria, los cuales deberán evaluarse en estudios de escalamiento.

Para estimar el retorno de inversión (ROI) bajo condiciones artesanales, se consideró una producción mínima viable de 10 litros semanales, con un precio de venta conservador de \$50 MXN/L. El ingreso bruto semanal proyectado asciende a \$500 MXN, frente a un costo de producción de \$198 MXN, generando un margen bruto

de \$302 MXN/semana (\$1,208 MXN/mes). Una inversión inicial estimada de \$3,500–5,000 MXN (recipientes de vidrio, báscula, refractómetro, insumos de inicio) se recuperaría en un plazo de 3 a 5 meses bajo este esquema productivo, considerando únicamente la venta directa en mercados locales y tianguis. A escala de 20 litros semanales —factible con los equipos disponibles en las sesiones de capacitación— el periodo de recuperación se reduciría a 6–8 semanas. Cabe señalar que estas estimaciones son de naturaleza exploratoria y deberán validarse mediante un estudio formal de escalamiento productivo en fases posteriores del proyecto.

En cuanto al entorno competitivo, el mercado local de Irapuato y la región del Bajío cuenta con una oferta incipiente de bebidas fermentadas artesanales, principalmente kéfir de leche de vaca comercializado por productores individuales a precios de \$40–70 MXN/L, y productos lácteos fermentados industriales (yakult, yogur bebible) disponibles en tiendas de autoservicio a \$15–35 MXN/L. El kéfir de soya representa un nicho diferenciado por su perfil libre de lactosa y su asociación con dietas plant-based, con demanda creciente en segmentos de consumidores vegetarianos, intolerantes a la lactosa y con sensibilidad a productos de origen animal, los cuales representan un mercado objetivo con mayor disposición a pagar precios premium. La ausencia de competidores directos con un producto equivalente en el mercado local constituye una ventaja competitiva inicial para las productoras artesanas del grupo capacitado.

Respecto al seguimiento con el grupo de productoras, al término de las cuatro sesiones de capacitación-producción se estableció un canal de comunicación vía grupo de mensajería para el intercambio de experiencias y resolución de dudas operativas. Se prevé una visita de seguimiento a los tres meses para valorar la continuidad productiva, las dificultades encontradas en la comercialización informal y el nivel de adopción del proceso en el entorno doméstico. Este acompañamiento postintervención es esencial para validar la sostenibilidad real del modelo productivo más allá de las condiciones controladas del estudio, y forma parte de la agenda de investigación participativa del proyecto.

CONCLUSIONES

El kéfir de soya elaborado mediante fermentación artesanal controlada demostró viabilidad tecnológica, microbiológica, sensorial y socio-productiva bajo condiciones experimentales controladas desde las perspectivas fisicoquímica, microbiológica, sensorial y económica.

El proceso fermentativo (24 h, 25 °C, 5% p/v de granos de kéfir adaptados) generó reducciones significativas de pH ($p < 0.001$) y consumo de carbohidratos solubles, con recuentos de BAL (1.2×10^8 UFC/mL) y levaduras (3.4×10^6 UFC/mL) conformes a estándares internacionales para kéfir artesanal funcional. La evaluación sensorial ($n = 30$) reportó aceptación global de 7.8 ± 0.3 en escala hedónica de nueve puntos, con reducción notable del sabor residual característico de la soya no fermentada.

El modelo de producción artesanal mostró un costo estimado de \$19.80 MXN por litro y alta percepción de viabilidad económica entre las 12 mujeres artesanas participantes, con intención de continuidad de 4.9/5.0 en escala Likert.

Esto posiciona al kéfir de soya como una herramienta de desarrollo comunitario con perspectiva de género, potencialmente replicable en contextos con condiciones socioeconómicas y productivas comparables de Guanajuato y estados con perfil sociodemográfico similar.

Se recomienda para trabajos futuros: (1) caracterización molecular de la microbiota mediante secuenciación 16S/ITS, (2) cuantificación de péptidos bioactivos e isoflavonas en el producto fermentado, (3) estudio de vida útil y condiciones de almacenamiento, y (4) acompañamiento regulatorio (COFEPRIS) para la formalización comercial del producto.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC International. (2019). Official methods of analysis of AOAC International (21st ed.). Method 996.06. Association of Official Analytical Chemists.

- Apalowo, O. E., Adegoye, G. A., Mbogori, T., Kandiah, J., & Obuotor, T. M. (2024). Nutritional characteristics, health impact, and applications of kefir. *Foods*, 13(1), 152. <https://doi.org/10.3390/foods13010152>
- Bresciani, L., Ströher, J. A., Silva, L. D., Lehn, D. N., Rama, G. R., Souza, E. M., Wilsmann, L. M., & Salazar, M. M. (2024). Kefir artesanal: análise dos atributos de qualidade em relação aos requisitos da legislação brasileira. *Observatório de la Economía Latinoamericana*, 22(4), 1–18.
- Cheng, T., Zhang, T., Zhang, P., Wang, L., & Liu, Y. (2024). The complex world of kefir. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(4), e13364. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13364>
- Del Carpio, P. S., Freitag, V., Jiménez Argote, Z. B., Sandoval Meza, C., & Martínez Ramírez, V. (2024). Dificultades en el trabajo artesanal femenino en Guanajuato. *Jóvenes en la Ciencia*, 8(2), 34–41.
- Jurado Salazar, A. (2025). Fermentación de leche de soya: alternativas y desafíos tecnológicos. En M. García & R. López (Eds.), *Bioteología de alimentos vegetales* (pp. 112–134). Editorial Universitaria.
- Karaçalı, R., Özdemir, N., & Çon, A. H. (2018). Aromatic and functional aspects of kefir produced using soya milk. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3), 664–672. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12478>
- Oros, J. H., Góngora, E. C., Pérez, D. C., & Elizondo, M. E. (2019). Análisis químico y microbiológico en kéfir artesanal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1123–1131.
- Oros, J. H., Quiroga, M. D., García, D. J., León, A., & Sandoval, I. C. (2019). Estudio piloto del consumo de kéfir artesanal. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 39(2), 88–95.
- R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ströher, J. A., Mendes Salazar, M., Neutzling Lehn, D., Ferreira da Silva, L. D., Hickmann Flôres, S., & Silva Malheiros, P. (2024). Percepções sobre a produção artesanal de kefir. *Revista Conexão UEPG*, 20(1), 45–58.
- Ströher, J. A., Oliveira, W. D., Ferreira da Silva, L. D., & Lehn, D. N. (2025). A global review of geographical diversity of kefir microbiome. *Fermentation*, 11(1), 12. <https://doi.org/10.3390/fermentation11010012>
- Tingirikari, J. M., Sharma, A., & Lee, H. (2024). Kefir: A fermented plethora of symbiotic microbiome and health. *Journal of Ethnic Foods*, 11(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s42779-024-00200-6>
- Valdez Bocanegra, H. G., Alfaro Vázquez, L. Y., & Carrasco Rangel, M. M. (2025). Mujeres y equilibrio vida-trabajo en Guanajuato. *Jóvenes en la Ciencia*, 9(1), 12–20.

Optimización de la extracción de vitaminas mediante ultrasonido en pimientos (*Capsicum annuum*) para la producción de alimentos funcionales

Optimization of vitamin extraction by ultrasound in Bell peppers (*Capsicum annuum*) to produce functional food

Estrella-Estrella M. J., Balan-Cen N. G., Portillo-Salgado R., Chi-Gutiérrez E. J., Lira Maas J. D., Can-Herrera L.A., Us-Camas R.Y., y Oney-Montalvo J. E.*

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Calkiní. Av. Ah Canul S/N por carretera Federal, 24900. Calkini, Campeche, México.

*Corresponding author email: jeoney@itescam.edu.mx

RESUMEN:

Las vitaminas son metabolitos secundarios presentes en los pimientos (*Capsicum annuum*), que se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus actividades antioxidantes. Este estudio tuvo como objetivo optimizar las condiciones de extracción de las vitaminas presentes en los pimientos para su uso en la elaboración de alimentos funcionales. Las condiciones óptimas para la extracción mediante baño ultrasónico de ácido ascórbico, α -tocoferol y β -caroteno se determinaron mediante un diseño Box-Behnken de tres factores (tiempo, relación y temperatura) y tres niveles (bajo, medio y alto), utilizando la metodología de superficie de respuesta. La cuantificación de las vitaminas se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia. Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 98.35% para el ácido ascórbico, 95.34% para el β -caroteno y 93.94% para el α -tocoferol. Las condiciones óptimas para el ácido ascórbico fueron 5 minutos, 39.8 °C y una relación de 80 (v/p), con un valor predicho de 7411.69 $\mu\text{g/g}$. En contraste, para el α -tocoferol fueron 45.5 minutos, 30 °C y una relación de 10.6 (v/p), con un valor esperado de 177.96 $\mu\text{g/g}$. Por otro lado, las condiciones óptimas para el β -caroteno fueron 47.6 minutos, 30 °C y una relación de 8 (v/p), con un valor predicho de 335.97 $\mu\text{g/g}$. Los valores experimentales, bajo condiciones óptimas de extracción ultrasónica, fueron de $174.89 \pm 20.31 \mu\text{g/g}$ para α -tocoferol, $339.28 \pm 19.62 \mu\text{g/g}$ para β -caroteno y $7109.36 \pm 197.51 \mu\text{g/g}$ para ácido ascórbico. No se observaron diferencias significativas entre los valores experimentales y los predichos, ya que los valores empíricos coincidieron estrechamente con los estimados por el modelo final seleccionado. Estos hallazgos demuestran que el ultrasonido es una técnica efectiva para la extracción de vitaminas y que las condiciones óptimas permiten maximizar el aprovechamiento de estos compuestos en el pimiento, los cuales pueden ser utilizados para la formulación de alimentos funcionales, aportar valor agregado a este fruto y contribuir a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas en la población.

PALABRAS CLAVE:

Ácido ascórbico, diseño Box–Behnken, metodología de superficie de respuesta, α -tocoferol, β -caroteno.

ABSTRACT:

Vitamins are one of the secondary metabolites found in bell peppers (*Capsicum annuum*) that are considered beneficial for human health due to their antioxidant activities. This study aimed to optimize conditions for extracting vitamins from bell peppers to produce functional foods. The optimum conditions for the ultrasound bath extraction of ascorbic acid, α -tocopherol, and β -carotene were determined using a three-factor (time, ratio, and temperature) and three-level (Low, medium, and high) Box-Behnken design under response surface methodology. Vitamin quantification was performed using high-efficiency liquid chromatography. Response variables presented a high correlation of 98.35% for ascorbic acid, 95.34% for β -carotene, and 93.94% for α -tocopherol. Optimal conditions for ascorbic acid were 5 minutes, 39.8 °C, and 80 ratio (v/w), with a predicted value of 7411.69 $\mu\text{g/g}$. In contrast, α -tocopherol was 45.5 minutes, 30 °C, and 10.6 ratio (v/w) with an expected value of 177.96 $\mu\text{g/g}$. On the other hand, optimal conditions for β -carotene were 47.6 minutes, 30 °C, and an eight-to-one ratio of v/w, with a predicted value of 335.97 $\mu\text{g/g}$. The experimental values for optimal conditions for the ultrasound extraction of vitamins were: α -tocopherol $174.89 \pm 20.31 \mu\text{g/g}$, β -carotene $339.28 \pm 19.62 \mu\text{g/g}$, and ascorbic acid $7109.36 \pm 197.51 \mu\text{g/g}$. There was no noticeable difference between experimental and predicted responses, with the empirical values closely matching those expected from the final selected model. These findings prove that ultrasound is effective in extracting vitamins, and that optimal

conditions can maximize the utilization of these compounds in bell peppers, enabling the formulation of functional foods, adding value to this fruit, and helping prevent chronic degenerative diseases in the population.

Keywords:

Ascorbic acid, Box–Behnken design, Response surface methodology, α -tocopherol, β -carotene.

INTRODUCCIÓN

Los frutos del género *Capsicum* son considerados un ingrediente de uso común en la cocina sudamericana y asiática debido a los aromas y sabores únicos que los caracterizan (Hassan et al., 2019). Una de sus propiedades organolépticas más distintivas es el picor, una sensación de calor y dolor asociada a los capsaicinoides, que son una de las principales razones por las que se utilizan como materia prima para la fortificación o la conservación de alimentos y en formulaciones farmacéuticas (Antonio et al., 2018; Naves et al., 2019).

Desafortunadamente, algunas variedades de frutos del género *Capsicum* presentan bajas concentraciones de capsaicinoides, por lo que no resultan atractivas para el sector agroindustrial; el pimiento (*Capsicum annuum*) es un claro ejemplo (González-Zamora et al., 2013). A pesar de ello, estos frutos contienen otros metabolitos secundarios de interés, ya que se consideran beneficiosos para la salud humana debido a sus propiedades antioxidantes (Olatunji y Afolayan, 2020). La función de estos compuestos es neutralizar radicales libres y especies reactivas de oxígeno en la célula, lo que previene el daño celular causado por el estrés oxidativo (Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019). Un ejemplo de estos antioxidantes son las vitaminas, en especial el ácido ascórbico, el α -tocoferol y la provitamina A (Wahyuni et al., 2013).

El ácido ascórbico, una vitamina hidrosoluble, es ampliamente reconocido como uno de los antioxidantes naturales más importantes debido a su capacidad para eliminar radicales libres generados durante el estrés oxidativo (Iqbal et al., 2017). Por otro lado, el α -tocoferol es una vitamina liposoluble que presenta efectos antioxidantes, previene la formación de células cancerígenas y posee actividad antiinflamatoria (Das Gupta y Suh, 2016; Grammas et al., 2004). Mientras que la provitamina A se refiere principalmente al β -caroteno, que es convertido por enzimas oxigenasas en retinol (vitamina A) tras su consumo (Wahyuni et al., 2013). Este compuesto es indispensable para la corrección de la visión y para la inhibición del crecimiento de células cancerígenas (Zhu, 2019). Debido a lo anterior, estos compuestos son de gran interés para la producción de alimentos funcionales.

El método de extracción es crucial para obtener extractos ricos en antioxidantes que puedan utilizarse en la elaboración de alimentos funcionales (Eskicioglu et al., 2015; Putnik et al., 2018). Sin embargo, también es fundamental emplear metodologías seguras y respetuosas con el medio ambiente (Kua et al., 2018). En el caso del ácido ascórbico, las técnicas reportadas incluyen la maceración y la extracción asistida por ultrasonido (Afnani et al., 2023; Umair et al., 2021). Los carotenoides y tocoferoles se extraen simultáneamente debido a su similar solubilidad (Ulusoy et al., 2016). Estas vitaminas liposolubles se obtienen principalmente mediante métodos como Soxhlet, maceración, ultrasonido y fluidos supercríticos (Andrade-Lima et al., 2019; Saini y Keum, 2018; Ubaid et al., 2014). Entre las metodologías mencionadas, la extracción asistida por ultrasonido destaca por sus tiempos de extracción cortos, lo que permite un alto rendimiento de los compuestos de interés debido a la formación de burbujas de cavitación, que incrementan la temperatura localizada y provocan la ruptura de la pared celular (Gilvanda et al., 2021; Zhang et al., 2018).

Para garantizar la máxima eficiencia en la extracción ultrasónica, es necesario considerar diferentes condiciones, ya que las vitaminas son susceptibles a factores como la temperatura, el tiempo de extracción y la relación soluto-solvente (Afnani et al., 2023; Umair et al., 2021). Diversos estudios han utilizado la metodología de superficie de respuesta para analizar adecuadamente el efecto de estas variables, siendo esta una herramienta estadística que permite evaluar el impacto interactivo entre las variables independientes (Swamy et al., 2014). Esta metodología ha sido empleada con éxito para modelar y optimizar procesos bioquímicos y biotecnológicos en el ámbito de los alimentos (Slimani et al., 2024). El diseño Box-Behnken es uno de los más utilizados debido a que es más simple y

eficiente que otros diseños factoriales (Martín-García et al., 2020). Además, presenta ventajas adicionales, como el uso de bloques, la detección de inconsistencias en el modelo, la estimación de parámetros de modelos cuadráticos y la construcción de diseños secuenciales (Ferreira et al., 2007).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue optimizar las condiciones de extracción de vitaminas en pimiento (*Capsicum annuum*) mediante un diseño Box-Behnken. Para ello, se emplearon solventes verdes (etanol y agua) y la técnica de extracción asistida por ultrasonido bajo diferentes condiciones de temperatura, tiempo de extracción y relación soluto-solvente, con el fin de garantizar la máxima extracción de vitaminas. La extracción óptima de las vitaminas presentes en el pimiento podría incrementar el valor agregado de este fruto y permitir la elaboración de alimentos funcionales. Asimismo, las condiciones establecidas en este trabajo podrían aplicarse a la extracción de estos compuestos en matrices con características estructurales similares a las de los frutos del género *Capsicum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la muestra

Los pimientos (*Capsicum annuum*) fueron recolectados en la comunidad de Calkiní, Campeche, México. Se utilizó agua destilada para limpiar los pimientos y eliminar cualquier contaminante. Posteriormente, los pimientos se secaron en una estufa de convección a 45 °C durante 72 h. Después, se molieron en un molino eléctrico de granos y se tamizaron en un tamiz #40, con un tamaño de partícula de 0.45 mm. Finalmente, los polvos obtenidos se almacenaron en bolsas de polietileno a 4 °C y se protegieron de la luz hasta su análisis.

Extracción ultrasónica

De acuerdo con Umair et al. (2021), la extracción asistida por ultrasonido se realizó con algunas modificaciones. Se utilizó un baño ultrasónico (Creworks, USA) con capacidad de 3 L, potencia de 120 W y frecuencia de 40 kHz. El baño ultrasónico cuenta con un termostato que permite controlar la temperatura entre 20 y 80 °C. Las condiciones evaluadas para el ácido ascórbico, el α -tocoferol y el β -caroteno se describen a continuación.

Condiciones para α -tocoferol y β -caroteno

Las condiciones de extracción para α -tocoferol y β -caroteno fueron de 20 a 60 minutos, 30 a 70 °C y una relación solvente-muestra (v/p, mL/g) de 4 (1 mL / 0.25 g) a 12 (3 mL / 0.25 g). El solvente utilizado para la extracción fue el etanol anhidro. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos, y el sobrenadante se filtró y se colocó en un vial para su análisis posterior mediante cromatografía líquida.

Condiciones para ácido ascórbico

Las condiciones para la extracción asistida por ultrasonido de ácido ascórbico fueron de 5 a 40 minutos, de 20 a 70 °C y una relación solvente-muestra (v/p, mL/g) de 40 (4 mL / 0.1 g) a 80 (8 mL / 0.1 g). En este caso, el solvente utilizado fue agua destilada acidificada con ácido acético a una concentración de 0.2 %. Las muestras se centrifugaron a 4500 rpm durante 20 minutos, y el sobrenadante se filtró y se colocó en un vial para su análisis mediante cromatografía líquida.

Diseño experimental Box-Behnken

El diseño Box-Behnken se utilizó para determinar las condiciones óptimas de extracción asistida por ultrasonido de α -tocoferol y β -caroteno en pimiento. Se emplearon tres variables independientes, cada una con tres niveles, lo que generó quince combinaciones experimentales con tres puntos centrales (Tabla 1). Las variables independientes utilizadas fueron la relación (de 4 a 12 v/p), el tiempo de sonicación (de 20 a 60 minutos) y la temperatura (de 30 a 70 °C).

Tabla 1. Condiciones ultrasónicas para la extracción de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico.

α-tocoferol y β-caroteno			
Variables independientes	Niveles de factores		
	-1	0	+1
Relación (v/w, mL/g)	4	8	12
Tiempo (minutes)	20	40	60
Temperatura (°C)	30	50	70
Ácido ascórbico			
Independent variables	Niveles de factores		
	-1	0	+1
Relación (v/w, mL/g)	40	60	80
Tiempo (minutes)	5	22.5	40
Temperatura (°C)	20	45	70

Asimismo, se aplicó un diseño Box-Behnken para el ácido ascórbico, evaluando como variables independientes la relación (de 40 a 80 v/p), el tiempo de sonicación (de 5 a 40 minutos) y la temperatura (de 20 a 70 °C). La relación entre las variables independientes y los valores de respuesta se modeló mediante un modelo de superficie de respuesta polinomial de segundo orden. Cada variable de respuesta se ajustó mediante la siguiente ecuación de regresión.

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i \neq j=1}^3 \beta_{ij} x_i x_j$$

Donde Y_i es la variable de respuesta, correspondiente a la concentración de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico; $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ son los coeficientes que representan la regresión del modelo, mientras que x_i y x_j son las variables codificadas que afectan la respuesta.

El coeficiente R^2 se utilizó para evaluar la precisión del modelo matemático. La superposición de gráficos de contorno y de superficies de respuesta tridimensionales se realizó con el software STATGRAPHICS Centurion XIX (Statgraphics Technologies Inc., The Plains, Virginia, USA). Las superficies de respuesta de todas las variables se consideraron para seleccionar las condiciones óptimas de extracción.

Determinación por HPLC

Para la determinación de ácido ascórbico, α -tocoferol y β -caroteno, se utilizó un sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA). El equipo estaba equipado con un automuestreador con un loop de inyección de 20 μ L, un detector de arreglo de diodos, un desgasificador de membrana y un compartimento de columna con regulador de temperatura. La columna utilizada fue una Grace Alltima HP C18-HL con tamaño de partícula de 5 μ m, longitud de 250 mm y diámetro interno de 4.6 mm.

Condiciones para α -tocoferol y β -caroteno

El análisis por HPLC de α -tocoferol y β -caroteno se realizó simultáneamente mediante la metodología propuesta por Marinova y Ribarova (2007). La fase móvil A consistió en acetonitrilo:metanol (95:5), mientras que la fase móvil B consistió en acetonitrilo:acetato de etilo (50:50). El flujo de la fase móvil fue de 1.2 mL/min, iniciando con 20% de B hasta el minuto 5, incrementándose gradualmente hasta 100% de B a los 35 minutos y posteriormente disminuyendo hasta regresar a 20% de B a los 40 minutos. La temperatura de la columna se mantuvo constante en 35 °C. La detección se realizó a 290 nm para α -tocoferol y a 450 nm para β -caroteno.

Condiciones para ácido ascórbico

La elución del ácido ascórbico se realizó bajo las condiciones reportadas por Klimczak y Gliszczynska-Wiglo (2015), con algunas modificaciones. Como fase móvil A se empleó agua con ácido fórmico al 0.2%, y como fase

móvil B, metanol, utilizando un sistema de gradiente que inicia con 100% de la fase móvil A hasta el minuto 5; posteriormente, la proporción cambia a 80% A y 20% B, manteniéndose hasta el minuto 10, donde las proporciones regresan nuevamente a 100% de la fase móvil A. El flujo de la fase móvil se mantuvo constante en 0.8 mL/min, la temperatura de la columna fue de 25 °C y la detección se realizó a 244 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los parámetros de extracción sobre α -tocoferol y β -caroteno

La Tabla 2 muestra las concentraciones de α -tocoferol y β -caroteno obtenidas tras la extracción asistida por ultrasonido. Los valores de concentración de α -tocoferol oscilaron entre 127.21 y 170.91 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones experimentales. El experimento 6 (relación 12 v/p, 30 °C y 40 min de tiempo de extracción) produjo la mayor cantidad de α -tocoferol, mientras que el experimento 1 (relación 4 v/p, 50 °C y 20 min de tiempo de extracción) presentó la menor concentración.

Por otro lado, los valores de concentración de β -caroteno variaron entre 232.37 y 322.30 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones. El valor más alto de β -caroteno se reportó en el experimento 10 (relación 12 v/p, 30 °C y 60 min de tiempo de extracción), mientras que el más bajo se obtuvo en el experimento 2 (relación 4 v/p, 50 °C y 20 min de tiempo de extracción). Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 95.34 % para β -caroteno y 93.94 % para α -tocoferol.

La Tabla 2 también muestra las concentraciones de ácido ascórbico obtenidas tras la extracción ultrasónica. Los valores oscilaron entre 4582.87 y 7425.08 $\mu\text{g/g}$ en las 15 combinaciones. En el experimento 2 (relación 80 v/p, 45 °C y 5 min de tiempo de extracción) se obtuvo la mayor concentración de ácido ascórbico. Por el contrario, el valor más bajo se cuantificó en el experimento 7 (relación 40 v/p, 70 °C y 22.5 min de tiempo de extracción). Las variables de respuesta presentaron una alta correlación de 98.35 %.

Table 2. Diseño experimental para la extracción ultrasónica de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico.

Experimento	Relación	Tiempo	Temperatura	α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$)	β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	Ácido ascórbico ($\mu\text{g/g}$)
1	-1	-1	0	127.21	292.44	5472.73
2	1	-1	0	160.13	232.37	7425.08
3	-1	1	0	134.89	286.13	5182.54
4	1	1	0	166.43	300.14	7180.99
5	-1	0	-1	152.59	316.76	5662.36
6	1	0	-1	170.86	298.17	6931.16
7	-1	0	1	150.05	321.64	4582.87
8	1	0	1	169.86	281.92	6434.56
9	0	-1	-1	165.25	309.39	6889.87
10	0	1	-1	170.91	322.30	6645.15
11	0	-1	1	160.09	314.95	6346.09
12	0	1	1	156.23	310.48	5418.92
13	0	0	0	164.81	321.17	6386.85
14	0	0	0	166.01	324.64	6458.16
15	0	0	0	164.05	321.36	6349.49

Optimización de los parámetros para la extracción de α -tocoferol y β -caroteno

La Figura 1 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de α -tocoferol en pimiento (*Capsicum annuum*), evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. Las superficies de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 1a) permiten observar una extracción máxima de α -tocoferol, la cual se alcanza a altas relaciones masa-solvente y a una temperatura de extracción intermedia. Por otro lado, las superficies de respuesta de la interacción relación-temperatura (Figura 1b) también muestran un máximo a altas relaciones masa-solvente, pero a bajas temperaturas. Mientras tanto, las superficies de respuesta de la interacción tiempo-temperatura (Figura 1c) corresponden a un punto de silla, en el que no es posible definir un máximo ni un mínimo.

Autores como Sabliov et al. (2009) han reportado que el α -tocoferol se degrada cuando se somete a altas temperaturas durante periodos prolongados, lo que explica la tendencia observada de una mayor concentración de esta vitamina a bajas temperaturas. En cuanto al tiempo de extracción, el intervalo de -0.6 (28 minutos) a 0.6 (52 minutos) mostró valores elevados de extracción, ya que tiempos prolongados tienden a degradar los tocoferoles por degradación térmica, mientras que tiempos cortos de sonicación no logran una extracción completa de los analitos presentes en la matriz (Rotondo et al., 2021). Asimismo, Ofori-Boateng y Lee (2014) reportaron el efecto de la relación, indicando un incremento en la concentración de α -tocoferol a medida que aumenta la relación muestra-solvente.

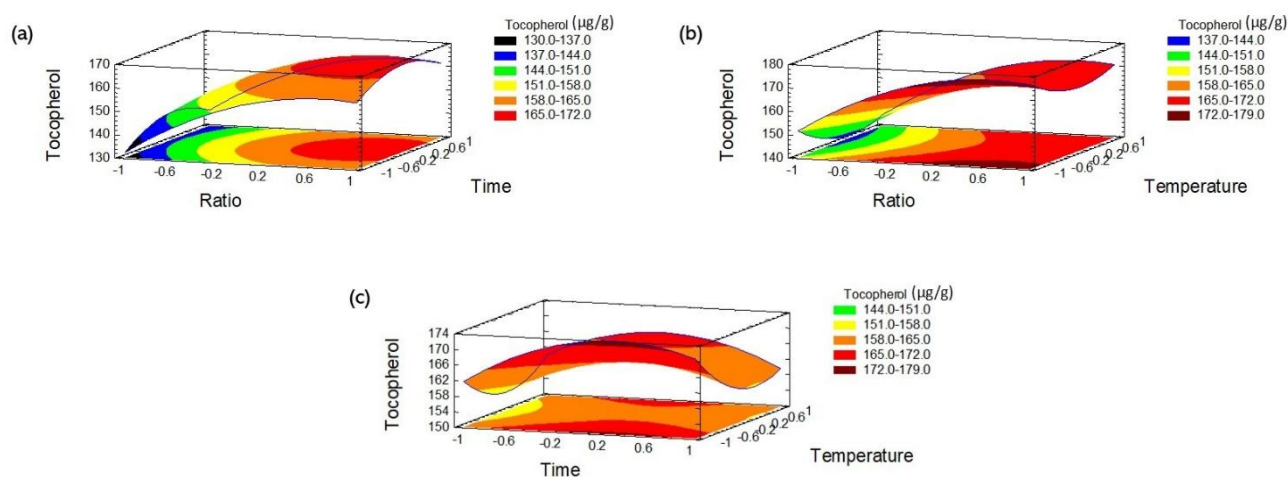


Figura 1. Superficies de respuesta para la cuantificación de α -tocoferol en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) relación y temperatura, (c) tiempo y temperatura.

Por otro lado, la Figura 2 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de β -caroteno en pimiento (*Capsicum annuum*), evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. En la superficie de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 2a) se observa una extracción máxima. En este caso, las superficies de respuesta de las interacciones relación-temperatura (Figura 2b) y tiempo-temperatura (Figura 2c) corresponden a puntos de silla, en los que no es posible definir un máximo ni un mínimo.

Se ha demostrado que el tiempo y la temperatura afectan la eficiencia de extracción de carotenoides, lo cual se atribuye a una combinación de efectos térmicos y de cavitación (Umair et al., 2021). Esto se debe a que la intensidad de la cavitación disminuye bajo ciertas condiciones de tiempo y temperatura, lo que afecta el rendimiento final de la extracción de carotenoides (Umair et al., 2021). Por otro lado, la optimización de la relación soluto/solvente es un parámetro clave en el proceso de extracción, ya que, al trabajar con volúmenes bajos de solvente y grandes cantidades de soluto, este puede saturarse, lo que se traduce en una interacción incompleta entre el solvente y el soluto (Dey y Rathod, 2013).

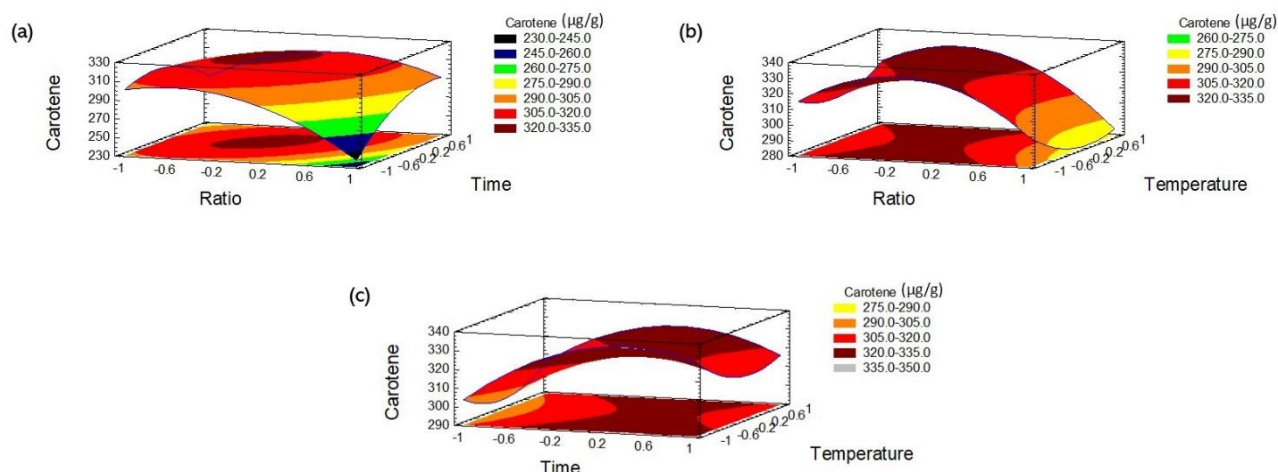


Figura 2. Superficies de respuesta para la cuantificación de β -caroteno en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) relación y temperatura, (c) tiempo y temperatura.

Optimización de los parámetros para la extracción de ácido ascórbico

La Figura 3 muestra las superficies de respuesta para la cuantificación de ácido ascórbico en *Capsicum annuum*, evaluando el efecto del tiempo, la temperatura y la relación entre ambos. En la superficie de respuesta de la interacción relación-tiempo (Figura 3a), se observa una extracción máxima a una relación alta (80 v/p) y tiempos cortos (5 minutos). Por otro lado, la superficie de respuesta de la interacción relación-temperatura (Figura 3b) presenta una alta concentración de ácido ascórbico a una relación elevada (80 v/p) y baja temperatura (20 °C). Finalmente, la superficie de respuesta de la interacción tiempo-temperatura (Figura 3c) muestra una tendencia a una mayor extracción de ácido ascórbico a bajas temperaturas y tiempos de extracción cortos.

Este comportamiento se debe a que el ácido ascórbico comienza a degradarse a temperaturas elevadas, por lo que se recomienda trabajar a bajas temperaturas, ya que por encima de 60 °C se acelera su degradación (Peter et al., 2014). En cuanto a la relación, se ha observado que este factor influye en la extracción de ácido ascórbico de matrices alimentarias, como la de *Hibiscus sabdariffa*. Un efecto similar ocurre en el pimiento, donde el rendimiento de extracción aumenta a medida que aumenta la cantidad de solvente; esto puede deberse a que altas concentraciones de ácido ascórbico pueden saturar el solvente (Peter et al., 2014). El efecto del tiempo de sonicación puede atribuirse a que una exposición prolongada al ultrasonido provoca la degradación de compuestos bioactivos, por lo que, en algunos casos, es necesario emplear tiempos cortos para lograr la máxima extracción de los compuestos de interés (Cruz-Cansino et al., 2023).

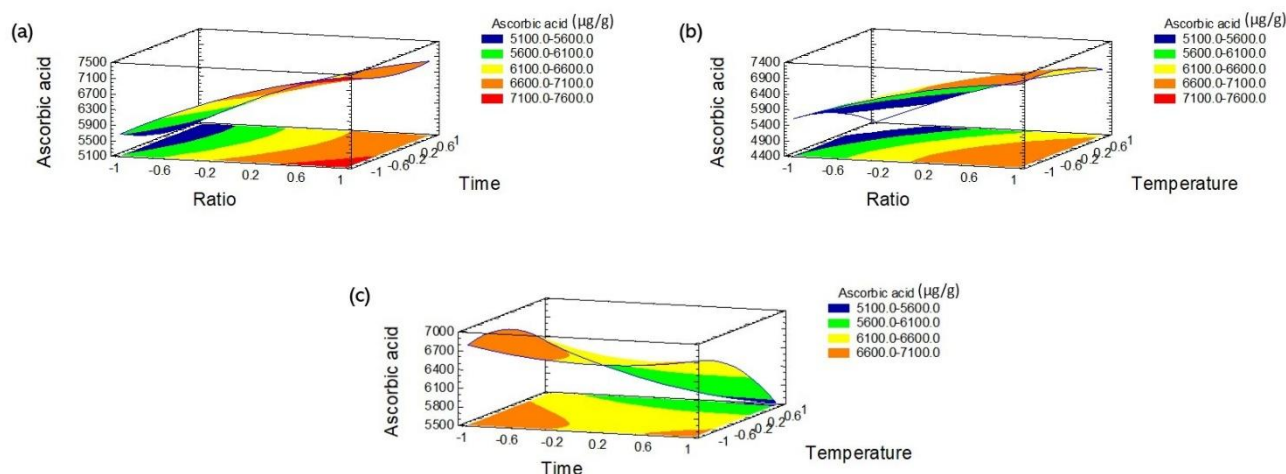


Figura 3. Superficies de respuesta para la cuantificación de ácido ascórbico en *Capsicum annuum*. (a) Efecto de la relación y el tiempo, (b) efecto de la relación y la temperatura, (c) efecto del tiempo y la temperatura.

Evaluación experimental de las condiciones óptimas

La Tabla 3 muestra las condiciones óptimas para la obtención de vitaminas en el pimiento. Las condiciones de extracción para α -tocoferol y β -caroteno coinciden en la temperatura (30 °C), y en ambos compuestos se requieren tiempos entre 40 y 50 minutos. La relación para el α -tocoferol fue de 10.6, mientras que para el β -caroteno fue de 8.04. Por otro lado, el ácido ascórbico presentó su mayor extracción a una relación de 80, un tiempo de 5 minutos y una temperatura de 39.8 °C.

No se observaron diferencias significativas entre las respuestas experimentales y las predichas, ya que los valores empíricos coincidieron estrechamente con los estimados por el modelo final seleccionado. Por lo tanto, se puede inferir que los factores de extracción optimizados mediante la metodología de superficie de respuesta permiten predecir con confianza el rendimiento de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico en extractos de pimiento.

Tabla 3. Condición óptima para la extracción ultrasónica de vitaminas y comparación entre los valores predichos y los experimentales.

Vitamina	Relación (mL/g)	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)	Valor teórico (µg/g)	Valor experimental (µg/g)
α -tocoferol	10.6	45.5	30	177.96	174.89 ± 20.31
β -caroteno	8.04	47.6	30	335.97	339.28 ± 19.62
Ácido ascórbico	80	5	39.75	7411.69	7109.36 ± 197.51

CONCLUSIÓN

La investigación demuestra que la extracción asistida por ultrasonido puede ser una herramienta eficaz para obtener estas vitaminas a partir del pimiento (*Capsicum annuum*), considerando las condiciones de extracción que inciden en la recuperación de α -tocoferol, β -caroteno y ácido ascórbico. Las condiciones óptimas para el ácido ascórbico

fueron una relación de 80 (v/p), un tiempo de 5 minutos y una temperatura de 39.8 °C, con un valor predicho de 7411.69 µg/g y un valor experimental de 7109.36 ± 197.51 µg/g. Para el β-caroteno, las condiciones óptimas fueron una relación de 8.04 (v/p), un tiempo de 47.6 minutos y una temperatura de 30 °C, con un valor predicho de 335.97 µg/g y un valor experimental de 339.28 ± 19.62 µg/g. En el caso del α-tocoferol, las condiciones óptimas fueron una relación de 10.6 (v/p), un tiempo de 45.5 minutos y una temperatura de 30 °C, con un valor esperado de 177.96 µg/g y un valor experimental de 174.89 ± 20.31 µg/g. Estas condiciones óptimas pueden emplearse para obtener extractos de pimiento ricos en vitaminas, que pueden incorporarse en la formulación de nuevos alimentos funcionales que contribuyan a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la anemia y las enfermedades cardiovasculares.

BIBLIOGRAFÍA

- Afnani, F., Yanti, J. H., & Pratiwi, W. S. W. (2023). Determination of vitamin C content in bell pepper (*Capsicum annuum* L.) with different protic polar solvent by UV–Vis spectroscopy. *Jurnal Kimia Riset*, 8(2), 116–123.
- Andrade-Lima, M., Kestekoglou, I., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2019). Supercritical fluid extraction of carotenoids from vegetable waste matrices. *Molecules*, 24(3), 466.
- Antonio, A. S., Wiedemann, L. S. M., & Veiga Junior, V. F. (2018). The genus *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. *RSC Advances*, 8(45), 25767–25784.
- Cruz-Cansino, N. del S., Cariño-Cortés, R., Cruz, R. N., Sandoval-Gallegos, E. M., Sumaya-Martínez, M. T., Ramírez-Moreno, E., & Fernández-Martínez, E. (2023). Ultrasound with controlled temperature as an emerging technology for extraction of antioxidant compounds from by-products of mango (*Mangifera indica* L. var. Ataulfo) juice. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 35(2), 162–169.
- Das Gupta, S., & Suh, N. (2016). Tocopherols in cancer: An update. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(6), 1354–1363.
- Dey, S., & Rathod, V. K. (2013). Ultrasound assisted extraction of β-carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 271–276.
- Eskicioglu, V., Kamiloglu, S., & Nilufer-Erdil, D. (2015). Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 487–499.
- Ferreira, S. C., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandão, G. C., & Dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, 597(2), 179–186.
- Gilvanda, L., Gisele, A., Candice, C. M., Jamile, N. C., Caldas, C., Silva, I. M. D. J., Walter, N. L., & Fabio, S. (2021). Multivariate optimization of an ultrasound-assisted extraction method of bioactive phenolic compounds in malagueta peppers (*Capsicum frutescens*). *Food Analytical Methods*, 14(1), 2607–2616.
- González-Zamora, A., Sierra-Campos, E., Luna-Ortega, J. G., Pérez-Morales, R., Ortiz, J. C. R., & García-Hernández, J. L. (2013). Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high-performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. *Molecules*, 18(11), 13471–13486.
- Grammas, P., Hamdheydari, L., Benaksas, E. J., Mou, S., Pye, Q. N., Wechter, W. J., Floyd, R. A., Stewart, C., & Hensley, K. (2004). Anti-inflammatory effects of tocopherol metabolites. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319(3), 1047–1052.
- Hassan, N. M., Yusof, N. A., Yahaya, A. F., Rozali, N. N. M., & Othman, R. (2019). Carotenoids of *Capsicum* fruits: Pigment profile and health-promoting functional attributes. *Antioxidants*, 8(10), 1–25.

- Iqbal, S., Inam, A., Inam, A., Ashfaq, F., & Sahay, S. (2017). Potassium and wastewater interaction in the regulation of photosynthetic capacity, ascorbic acid and capsaicin in chilli (*Capsicum annuum* L.) plant. *Agricultural Water Management*, 184(1), 201–210.
- Klimeczak, I., & Gliszczynska-Wiglo, A. (2015). Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. *Food Chemistry*, 175(1), 100–105.
- Kua, Y. L., Gan, S., Morris, A., & Ng, H. K. (2018). Optimization of simultaneous carotenes and vitamin E (tocols) extraction from crude palm olein using response surface methodology. *Chemical Engineering Communications*, 205(5), 596–609.
- Marinova, D., & Ribarova, F. (2007). HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(5), 370–374.
- Martín-García, B., Pimentel-Moral, S., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). Box-Behnken experimental design for a green extraction method of phenolic compounds from olive leaves. *Industrial Crops and Products*, 154(1), 112741.
- Naves, E. R., de Ávila Silva, L., Sulpice, R., Araújo, W. L., Nunes-Nesi, A., Peres, L. E. P., & Zsögön, A. (2019). Capsaicinoids: Pungency beyond *Capsicum*. *Trends in Plant Science*, 24(2), 109–120.
- Ofori-Boateng, C., & Lee, K. T. (2014). Ultrasonic-assisted extraction of α -tocopherol antioxidants from the fronds of *Elaeis guineensis* Jacq.: Optimization, kinetics, and thermodynamic studies. *Food Analytical Methods*, 7(2), 257–267.
- Olatunji, T. L., & Afolayan, A. J. (2020). Comparison of nutritional, antioxidant vitamins and capsaicin contents in *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. *International Journal of Vegetable Science*, 26(2), 190–207.
- Peter, E., Mashoto, K. O., Rumisha, S. F., Malebo, H. M., Shija, A., & Oriyo, N. (2014). Iron and ascorbic acid content in *Hibiscus sabdariffa* calyces in Tanzania: Modeling and optimization of extraction conditions. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 4(2), 27–35.
- Putnik, P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Jambrak, A. R., Granato, D., Montesano, D., & Kovačević, D. B. (2018). Novel food processing and extraction technologies of high-added value compounds from plant materials. *Foods*, 7(7), 1–16.
- Rotondo, A., Torre, G. L., Gervasi, T., Di Matteo, G., Spano, M., Ingallina, C., & Salvo, A. (2021). A fast and efficient ultrasound-assisted extraction of tocopherols in cow milk followed by HPLC determination. *Molecules*, 26(15), 1–12.
- Sabliov, C. M., Fronczek, C., Astete, C. E., Khachatryan, M., Khachatryan, L., & Leonardi, C. (2009). Effects of temperature and UV light on degradation of α -tocopherol in free and dissolved form. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 895–902.
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240(1), 90–103.
- Slimani, C., Rais, C., Mansouri, F., Rais, S., Benjelloun, M., Ullah, R., Iqbal, Z., Goh, K. W., Lee, L. H., Bouyahya, A., & Lazraq, A. (2024). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenols from *Crocus sativus* by-products using sunflower oil as a sustainable solvent alternative. *Food Chemistry: X*, 23(1), 101579.
- Swamy, G. J., Sangamithra, A., & Chandrasekar, V. (2014). Response surface modeling and process optimization of aqueous extraction of natural pigments from *Beta vulgaris* using Box-Behnken design of experiments. *Dyes and Pigments*, 111(1), 64–74.
- Ubaid, A., Jabeen, R., Haq, N., Khan, M., Rizwan, S., Jamil, N., Riaz, M., Mandokhel, F., Behlil, F., Imtiaz, R., & Arshad, S. (2014). Extraction and estimation of alpha-tocopherol from commercially available vegetable cooking oils by HPLC. *Academic Journal of Nutrition*, 3(1), 1–5.

- Ulusoy, H. İ., Acidereli, H., & Tutar, U. (2016). Optimization of extraction parameters for fat soluble vitamins and major element analysis in *Polygonum cognatum* Meissn plant (Madimak). *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 4(1), 165–178.
- Umair, M., Jabbar, S., Nasiru, M. M., Lu, Z., Zhang, J., Abid, M., Murtaza, M. A., Kieliszek, M., & Zhao, L. (2021). Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from carrot pomace and their optimization through response surface methodology. *Molecules*, 26(22), 6763.
- Wahyuni, Y., Ballester, A. R., Sudarmonowati, E., Bino, R. J., & Bovy, A. G. (2013). Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *Journal of Natural Products*, 76(4), 783–793.
- Zehiroglu, C., & Ozturk Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 4757–4774.
- Zhang, Y., Zhou, W. E., Yan, J. Q., Liu, M., Zhou, Y., Shen, X., Ma, Y. L., Feng, X. S., Yang, J., & Li, G. H. (2018). A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010. *Molecules*, 23(6), 1–25.
- Zhu, G. (2019). Vitamin A and its derivatives: Retinoic acid and retinoid pharmacology. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 3(2), 162–177.

Evaluación de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) como sustrato lignocelulósico para la producción de *Pleurotus ostreatus*

Evaluation of bamboo (*Bambusa oldhamii*) leaves as a lignocellulosic substrate for *Pleurotus ostreatus* production

Orozco-Gutiérrez, G^{1*} Quiñones-Islas, N.S²

¹ Investigadora en Bambú, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Tecomán, Tecomán, Colima, México.

² Investigadora en Biotecnología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Tecomán, Tecomán, Colima, México.

*Correo: orozco.gabriela@inifap.gob.mx

RESUMEN

La producción de hongos comestibles constituye una estrategia sostenible para valorizar residuos lignocelulósicos y generar alimentos de alto valor nutricional. El objetivo de este estudio fue evaluar el rastrojo de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, en comparación con rastrojo de maíz (*Zea mays*) como testigo convencional. El experimento se realizó en Remudadero, Comala, Colima, México. Se evaluaron el tiempo de emergencia de primordios, el inicio de cosecha y la eficiencia biológica. El sustrato de bambú presentó menor tiempo de emergencia de primordios (18.2 ± 1.3 días) y menor tiempo de inicio de cosecha respecto al maíz, con diferencias significativas ($p \leq 0.05$). La eficiencia biológica fue de 39.5 % en bambú y 48.5 % en maíz. Los resultados indican que las hojas de bambú constituyen un sustrato viable, con ciclos de producción más cortos, aunque con menor rendimiento relativo. Su aprovechamiento representa una alternativa para valorizar residuos de poda, promover la economía circular y diversificar la producción de hongos comestibles en regiones tropicales.

PALABRAS CLAVE: setas, *Pleurotus ostreatus*, sustrato lignocelulósico, hojas de bambú, valorización de residuos.

ABSTRACT

Edible mushroom production is a sustainable strategy for valorizing lignocellulosic residues while generating high-value nutritional products. This study evaluated bamboo (*Bambusa oldhamii*) leaf residues as a substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation, using maize (*Zea mays*) stover as a conventional control. The experiment was conducted in Remudadero, Comala, Colima, Mexico. Primordia emergence time, harvest initiation, and biological efficiency were assessed. The bamboo substrate showed a shorter primordia emergence time (18.2 ± 1.3 days) and earlier harvest compared to maize, with significant differences ($p \leq 0.05$). Biological efficiency reached 39.5% in bamboo and 48.5% in maize. These findings indicate that bamboo leaves are a viable alternative substrate, enabling shorter production cycles despite slightly lower yields. Their use represents a sustainable strategy to valorize pruning residues, promote circular economy practices, and diversify mushroom production systems in tropical regions.

KEYWORDS: oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, lignocellulosic substrate, bamboo leaves, waste valorization

INTRODUCCIÓN

El género *Pleurotus* es uno de los hongos comestibles más cultivados a nivel mundial debido a su alta eficiencia biológica, rápido crecimiento y capacidad para degradar una amplia gama de residuos lignocelulósicos mediante un complejo enzimático ligninolítico, que incluye celulasas, hemicelulasas y lacasas. Esta capacidad metabólica permite transformar materiales agrícolas de bajo valor en biomasa fúngica rica en proteínas, con contenidos que oscilan entre 19 y 35 % en peso seco, además de compuestos bioactivos con propiedades nutraceuticas (Sánchez, 2010; Royse et al., 2017). En este contexto, el cultivo de setas representa una estrategia biotecnológica sostenible

que contribuye simultáneamente a la seguridad alimentaria, la generación de ingresos y la reducción de residuos agrícolas.

A nivel global, la producción de hongos comestibles ha mostrado un crecimiento sostenido impulsado por la demanda de alimentos funcionales y sistemas de producción más sostenibles. En países en desarrollo, el cultivo de *Pleurotus* ha adquirido relevancia por su bajo costo de producción y su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales, utilizando residuos locales como sustrato (Philippoussis, 2009; Sánchez, 2010). En México, esta actividad ha cobrado importancia socioeconómica debido a sus beneficios nutricionales y medicinales; sin embargo, la producción aún depende en gran medida de sustratos convencionales como rastrojo de maíz o paja de trigo, lo que limita la diversificación productiva y el aprovechamiento de otros residuos lignocelulósicos disponibles (Wu et al., 2019; Royse et al., 2017).

En este sentido, la búsqueda de sustratos alternativos constituye una línea de investigación prioritaria para mejorar la sostenibilidad del sistema productivo. Diversos estudios han demostrado que residuos agrícolas y forestales pueden ser utilizados como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, influyendo directamente en parámetros como el tiempo de colonización, la formación de primordios y la eficiencia biológica (Wu et al., 2019; Yamauchi et al., 2019; Fufa et al., 2021). La composición química de estos materiales, particularmente el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, juega un papel determinante en el desarrollo del micelio y en el rendimiento del cultivo.

El bambú constituye un recurso lignocelulósico de alta disponibilidad en regiones tropicales y subtropicales, cuyos residuos de poda, particularmente hojas y ramas, representan una biomasa subutilizada con alto potencial biotecnológico. Desde el punto de vista químico, estos materiales presentan una composición rica en celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo esta última un componente estructural clave que influye en la degradabilidad del sustrato y en la actividad de enzimas ligninolíticas durante el crecimiento fúngico. En términos generales, el contenido de lignina en biomasa de bambú oscila entre 20 y 30 %, dependiendo del tejido y la edad del material (Ramesh et al., 2022; Zhang et al., 2023). De manera más específica, se ha reportado que las hojas de bambú presentan contenidos cercanos al 26 %, lo que las posiciona como un sustrato potencialmente adecuado para el cultivo de hongos ligninolíticos como *Pleurotus ostreatus* (Ramesh et al., 2022; Zhang et al., 2023). Asimismo, la variabilidad en la estructura y composición de la lignina entre diferentes tejidos del bambú influye directamente en su susceptibilidad a la degradación biológica, lo que puede impactar en parámetros productivos como la colonización del micelio y la eficiencia biológica del cultivo (Zhang et al., 2023). Investigaciones previas han reportado el uso exitoso de residuos de bambú, como aserrín o material fermentado, en la producción de *P. ostreatus*, mostrando reducciones en el tiempo de producción y rendimientos comparables a los obtenidos con sustratos convencionales (Yamauchi et al., 2019).

En este contexto, el bambú ha sido evaluado como sustrato alternativo en diferentes formas, principalmente como aserrín o material fermentado, mostrando resultados favorables en el cultivo de *Pleurotus*. Por ejemplo, el uso de aserrín de bambú fermentado ha permitido reducir el tiempo total de producción entre 3 y 7 días en comparación con sustratos convencionales, manteniendo rendimientos competitivos (Yamauchi et al., 2019). Asimismo, estudios recientes han incorporado hojas de bambú en la evaluación de distintos residuos vegetales, evidenciando su potencial como componente del sustrato sin afectar negativamente el desarrollo del cultivo (Kumar et al., 2024). De manera complementaria, se ha demostrado que las fibras de bambú pueden ser colonizadas eficientemente por *Pleurotus ostreatus*, lo que confirma la compatibilidad estructural y química entre este recurso y el micelio fúngico (Elsacker et al., 2020).

A pesar de estos avances, el uso específico de hojas de bambú como sustrato principal en condiciones tropicales ha sido poco explorado, particularmente en regiones como el estado de Colima, México, donde existe una alta disponibilidad de este residuo. Su aprovechamiento no solo representa una alternativa productiva, sino también una estrategia para promover la economía circular, reducir la quema de residuos agrícolas y mejorar la sostenibilidad de los sistemas agroforestales.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el rastrojo de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) como sustrato alternativo para la producción de *Pleurotus ostreatus*, comparándolo con rastrojo de maíz como sustrato convencional, mediante la caracterización y determinación del tiempo de emergencia de primordios, inicio de cosecha y eficiencia biológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. El estudio se realizó en la localidad de Remudadero, municipio de Comala, Colima, México, en una plantación de bambú de siete años de edad. La plantación presenta una densidad de 400 plantas ha⁻¹, con un espaciamiento de 5 × 5 m. El sitio de estudio se localiza a una altitud de 1200 m s.n.m., en las coordenadas 19°17'50" N y 103°44'47" O, con una pendiente que oscila entre 20 y 30 % (Tabla 1).

Tabla 1. Localización donde se encuentran establecidas las plantaciones de bambú en el municipio de Comala, Colima.

Municipio / Rancho	Localidad	Superficie (ha)	Altitud (msnm)	Coordenadas	Espaciamiento (m)
Comala / Remudadero / Tecolote	“El	10	1200	19°17'50" N, 103°44'47" O	5 × 5

Caracterización de los sustratos. La caracterización de los sustratos lignocelulósicos se llevó a cabo mediante la cuantificación de sus fracciones estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) y la determinación de la relación carbono/nitrógeno (C/N). Se analizaron muestras representativas de rastrojo de hojas de *Bambusa oldhamii* y rastrojo de maíz (*Zea mays*), previamente secadas y molidas. La composición lignocelulósica se determinó mediante métodos estándar de análisis de fibra, mientras que el carbono orgánico total y el nitrógeno total se cuantificaron para estimar la relación C/N. Estos parámetros permitieron evaluar la recalcitrancia del sustrato y su susceptibilidad a la degradación enzimática por *Pleurotus ostreatus*, estableciendo una base para interpretar el desempeño productivo observado en cada tratamiento.

Preparación de sustratos. Se evaluaron dos sustratos lignocelulósicos: residuos de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*), obtenidos a partir de podas de ramas laterales, y rastrojo de maíz (*Zea mays*) molido, utilizado como sustrato testigo convencional. Ambos materiales fueron sometidos a un proceso de molienda mecánica con el fin de homogenizar el tamaño de partícula, favorecer la compactación del sustrato y facilitar la colonización del micelio.

Pasteurización de sustratos. Para la pasteurización, se pesaron 3 kg de material previamente triturado, los cuales fueron colocados en costales de polipropileno. Se preparó una solución alcalina compuesta por 35 L de agua y 105 g de hidróxido de calcio (Ca(OH)₂). Los costales se sumergieron completamente en la solución y se sometieron a calentamiento hasta alcanzar una temperatura de 80 °C, la cual se mantuvo durante 2 h. La temperatura fue monitoreada mediante un termómetro infrarrojo. Posteriormente, los costales se retiraron del sistema de calentamiento y se dejaron reposar durante 15 min. Se permitió el escurrimiento del exceso de agua y el sustrato se enfrió hasta alcanzar una temperatura de entre 20 y 27 °C, adecuada para la inoculación del micelio.

Inoculación y establecimiento del cultivo. Se utilizó micelio de *Pleurotus ostreatus* previamente propagado en granos de sorgo, adquirido de un proveedor comercial (Caser Hongo, Hidalgo, México). El inóculo fue desagregado manualmente en condiciones asépticas y posteriormente incorporado en bolsas de polietileno mediante un sistema de estratificación.

Las bolsas se llenaron colocando capas alternas de sustrato (aproximadamente 10 cm de espesor) y micelio, hasta completar su volumen total, asegurando una distribución homogénea del inóculo. Una vez llenas, las bolsas se

cerraron con liga y se realizaron perforaciones laterales para permitir el intercambio gaseoso. Posteriormente, las unidades experimentales se colocaron en posición vertical sobre anaqueles bajo condiciones controladas.

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar, con dos tratamientos (sustrato de bambú y sustrato de maíz) y ocho repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron: tiempo de colonización del micelio (días), tiempo de emergencia de primordios (días), tiempo de inicio de cosecha (días) y eficiencia biológica (%) (Bellettini *et al.*, 2019)

Eficiencia biológica. La eficiencia biológica (EB) se utilizó como indicador del rendimiento del cultivo y se expresó en porcentaje (Bellettini *et al.*, 2019). Este parámetro se calculó como la relación entre el peso fresco total de los cuerpos fructíferos obtenidos y el peso seco inicial del sustrato, multiplicado por 100.

$$EB(\%) = \frac{\text{peso fresco de hongos (g)}}{\text{peso seco del sustrato (g)}} \times 100$$

Control ambiental. Durante el periodo de incubación y fructificación, se monitorearon las condiciones ambientales dentro del área de cultivo, registrando la temperatura y la humedad relativa. La temperatura se mantuvo en un rango de 18 a 28 °C, adecuado para el crecimiento y desarrollo de *Pleurotus ostreatus*, mientras que la humedad relativa se controló para favorecer la formación de primordios y el desarrollo de los cuerpos fructíferos. El monitoreo se realizó de manera periódica mediante instrumentos de medición ambiental, con el fin de asegurar condiciones homogéneas durante todo el experimento.

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar, con el objetivo de evaluar el efecto del tipo de sustrato sobre las variables de estudio. Previamente, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Cuando se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$), se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey (HSD). Las variables analizadas incluyeron: tiempo de colonización del micelio, tiempo de emergencia de primordios, tiempo de inicio de cosecha y eficiencia biológica.

Adicionalmente, se calcularon estadísticas descriptivas (media $\pm$ desviación estándar) para cada variable evaluada. El análisis estadístico se realizó utilizando el software R (versión 4.4.2; R Core Team, 2025).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química de los sustratos mostró diferencias claras entre el rastrojo de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) y el rastrojo de maíz (*Zea mays*) (Tabla 2). El sustrato de bambú presentó un mayor contenido de celulosa (44.2 %) y lignina (25.3 %), así como una relación C/N más elevada (62.4), en comparación con el sustrato de maíz, el cual registró mayores valores de hemicelulosa (27.9 %) y un menor contenido de lignina (14.6 %). Estas diferencias en la composición lignocelulósica sugieren una mayor recalcitrancia estructural del sustrato de bambú, atribuida principalmente a su mayor proporción de lignina, la cual limita la accesibilidad de las enzimas hidrolíticas a los polisacáridos estructurales. En contraste, el mayor contenido de hemicelulosa en el rastrojo de maíz favorece una degradación más rápida, debido a su naturaleza amorfa y mayor susceptibilidad a la hidrólisis enzimática.

Asimismo, la relación C/N observada en el sustrato de bambú indica una menor disponibilidad relativa de nitrógeno, lo que puede influir en el crecimiento micelial y en la eficiencia biológica del cultivo. Por el contrario, el rastrojo de maíz presentó una relación C/N más equilibrada, lo cual ha sido asociado con condiciones más favorables para el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*.

En conjunto, estos resultados permiten explicar las diferencias observadas en el comportamiento productivo de ambos sustratos, particularmente en términos de velocidad de colonización y rendimiento, evidenciando la influencia directa de la composición química sobre el desempeño del cultivo. El análisis estadístico mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los sustratos para todas las variables de composición química evaluadas.

El sustrato de bambú presentó mayores contenidos de celulosa y lignina, así como una relación C/N significativamente superior a la observada en el rastrojo de maíz. Por su parte, el rastrojo de maíz mostró un contenido de hemicelulosa significativamente mayor que el sustrato de bambú, lo que sugiere una mayor disponibilidad de carbohidratos fácilmente degradables para el desarrollo del micelio Tabla 2.

Tabla 2. Composición lignocelulósica y relación C/N de los sustratos utilizados en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (media $\pm$ desviación estándar, n = 3).

Sustrato	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	C/N
Bambú	44.2 $\pm$ 1.8 ^a	21.6 $\pm$ 1.3 ^b	25.3 $\pm$ 1.5 ^a	62.4 $\pm$ 3.2 ^a
Maíz	37.8 $\pm$ 1.5 ^b	27.9 $\pm$ 1.7 ^a	14.6 $\pm$ 1.2 ^b	54.1 $\pm$ 2.6 ^b

Por otro lado, en el cultivo el sustrato elaborado a partir de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) presentó un menor tiempo de emergencia de primordios (18.2 $\pm$ 1.3 días) en comparación con el rastrojo de maíz (22.7 $\pm$ 1.8 días), lo que indica una transición más rápida hacia la fase reproductiva del cultivo. De manera similar, el tiempo de inicio de cosecha fue significativamente menor en el sustrato de bambú (25.4 $\pm$ 2.1 días) respecto al tratamiento convencional (29.6 $\pm$ 1.9 días), mostrando diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$) (Tabla 3).

Tabla 3. Tiempo de emergencia de primordios, inicio de cosecha y eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado en diferentes sustratos (media $\pm$ desviación estándar, n = 8).

Sustrato	Tiempo de emergencia de primordios (días)	Tiempo de inicio de cosecha (días)	Eficiencia biológica (%)
Bambú (<i>Bambusa oldhamii</i>)	18.2 $\pm$ 1.3 ^b	25.4 $\pm$ 2.1 ^b	39.5 $\pm$ 3.4 ^b
Maíz (<i>Zea mays</i>)	22.7 $\pm$ 1.8 ^a	29.6 $\pm$ 1.9 ^a	48.5 $\pm$ 4.1 ^a

Nota: Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

Estos resultados sugieren una mayor rapidez en el establecimiento y desarrollo del micelio en el sustrato de bambú, lo cual puede estar asociado a su composición lignocelulósica, particularmente a la disponibilidad de celulosa y hemicelulosa, que favorecen la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus*. En este sentido, se ha reportado que residuos de bambú, especialmente en forma de aserrín o material fermentado, pueden reducir el tiempo total de producción entre 3 y 7 días en comparación con sustratos convencionales (Yamauchi *et al.*, 2019). Asimismo, la capacidad de *Pleurotus* spp. para degradar eficientemente polisacáridos estructurales ha sido ampliamente documentada, lo que respalda su adaptación a este tipo de materiales (Bellettini *et al.*, 2019).

En términos de productividad, el sustrato de maíz presentó una mayor eficiencia biológica (48.5 $\pm$ 4.1 %) en comparación con el sustrato de bambú (39.5 $\pm$ 3.4 %), así como un mayor número de cuerpos fructíferos y peso fresco total por unidad experimental (Tabla 2 y Tabla 3). De manera específica, el número promedio de cuerpos fructíferos fue de 15.6 $\pm$ 2.1 por bolsa en el sustrato de maíz, frente a 11.8 $\pm$ 2.4 en el sustrato de bambú, mientras que el peso fresco total alcanzó 970 $\pm$ 82 g y 790 $\pm$ 68 g, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Número de cuerpos fructíferos y rendimiento de *Pleurotus ostreatus* cultivado en diferentes sustratos (media $\pm$ desviación estándar, n = 8).

Sustrato	Cuerpos fructíferos (número por bolsa)	Peso fresco total (g por bolsa)	Peso fresco en primera cosecha (g)
Bambú (<i>Bambusa oldhamii</i>)	11.8 $\pm$ 2.4 ^b	790 $\pm$ 68 ^b	320 $\pm$ 35 ^b

Maíz (<i>Zea mays</i>)	15.6 ± 2.1 ^a	970 ± 82 ^a	410 ± 42 ^a
-------------------------------	-------------------------	-----------------------	-----------------------

Nota: Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura, donde sustratos basados en residuos de cereales suelen alcanzar eficiencias biológicas superiores (45–60 %), debido a un balance más favorable de carbono y nitrógeno, así como a una estructura física que mejora la aireación y la retención de humedad (Bellettini *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019).

Por otro lado, la menor eficiencia observada en el sustrato de bambú puede atribuirse a su mayor contenido de lignina, la cual actúa como una barrera estructural que limita la accesibilidad de los polisacáridos para la degradación enzimática. Se ha documentado que el contenido de lignina en biomasa de bambú oscila entre 20 y 30 %, dependiendo del tejido y la edad del material, lo que influye directamente en su recalcitrancia biológica (Ramesh *et al.*, 2022; Ren *et al.* 2024). No obstante, el rendimiento obtenido en este estudio (39.5 %) se encuentra dentro del rango reportado para residuos lignocelulósicos alternativos, lo que confirma su viabilidad como sustrato.

A pesar de su menor rendimiento relativo, el uso de hojas de bambú representa una alternativa sostenible, ya que permite reducir el tiempo de producción y valorizar residuos agrícolas subutilizados. Además, su disponibilidad en regiones tropicales como Colima favorece su implementación en sistemas productivos locales, contribuyendo a la economía circular y a la diversificación de los sustratos utilizados en el cultivo de hongos comestibles. En este contexto, la optimización del sustrato mediante suplementación o mezclas con otros residuos agrícolas podría incrementar su eficiencia biológica sin comprometer la rapidez del ciclo productivo.

CONCLUSIONES

El uso de rastrojo de hojas de bambú (*Bambusa oldhamii*) como sustrato para la producción de *Pleurotus ostreatus* es técnicamente viable, al presentar un rendimiento de 39.5 % y tiempos significativamente menores de emergencia de primordios e inicio de cosecha en comparación con el sustrato convencional de maíz. Estos resultados evidencian una mayor rapidez en el ciclo productivo, lo que representa una ventaja operativa relevante.

Aunque la eficiencia biológica fue inferior respecto al sustrato de maíz, el rendimiento obtenido se mantiene dentro de rangos aceptables para sustratos lignocelulósicos alternativos, lo que confirma el potencial del bambú como recurso viable en sistemas de producción de hongos comestibles. Desde una perspectiva productiva y ambiental, el aprovechamiento de hojas de bambú permite valorizar residuos de poda comúnmente subutilizados o eliminados mediante quema, contribuyendo a la economía circular, la reducción del impacto ambiental y la diversificación de los sistemas agroforestales en regiones como Colima.

Asimismo, la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre este tipo de sustrato representa una alternativa para la generación de alimentos funcionales de alto valor proteico, con potencial para fortalecer la seguridad alimentaria y generar ingresos adicionales en comunidades rurales. Se recomienda que futuras investigaciones evalúen estrategias de optimización del sustrato, tales como la suplementación con fuentes de nitrógeno o la combinación con residuos agrícolas, con el fin de incrementar la eficiencia biológica sin afectar la rapidez del ciclo productivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., Maccari, A., & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633–646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Elsacker, E., Vandeloof, S., Brancart, J., Peeters, E., & De Laet, L. (2020). Mechanical, physical and chemical characterisation of mycelium-based composites with different types of lignocellulosic substrates. *PLOS ONE*, 15(7), e0236926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236926>

- Fufa, A., Jiru, T., & Tsegaye, Z. (2021). Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) using different agricultural residues. *Heliyon*, 7(6), e07246. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07246>
- Kumar, R., Singh, M., & Kumar, V. (2024). Evaluation of lignocellulosic substrates including bamboo residues for oyster mushroom cultivation. *Journal of Fungi*, 10(2), 112. <https://doi.org/10.3390/jof10020112>
- Philippoussis, A. (2009). Production of mushrooms using agro-industrial residues as substrates. In P. Singh Nee Nigam & A. Pandey (Eds.), *Biotechnology for agro-industrial residues utilization* (pp. 163–196). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7_9
- R Core Team. (2025). *R: A language and environment for statistical computing* (Version 4.4.2). R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org>
- Ramesh, M., Palanikumar, K., & Reddy, K. H. (2022). Mechanical and chemical properties of bamboo fiber composites: A review. *Journal of Natural Fibers*, 19(10), 3947–3966. <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1848723>
- Ren, W., Zhang, D., Zhou, Y., Wang, H., Xia, L., Tan, C., Guo, F., Zhang, X., Yang, R., & Yu, Y. (2024). *Lignin's complex role in lignocellulosic biomass recalcitrance: A case study on bamboo*. Chemical Engineering Journal, 490, 151422. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.151422>
- Royse, D. J., Baars, J., & Tan, Q. (2017). Current overview of mushroom production in the world. In D. C. Zied & A. Pardo-Giménez (Eds.), *Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications* (pp. 5–13). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch5>
- Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1321–1337. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>
- Wu, F., Zhou, L.-W., & Yang, Z.-L. (2019). Resource diversity of edible fungi and their utilization. *Mycology*, 10(2), 1–16. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1613057>
- Yamauchi, M., Sakamoto, M., Yamada, M., Hara, H., Mat Taib, S., Rezaia, S., Mohd Fadhil, M. D., & Mohd Hanafi, F. H. (2019). Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 490–494. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.021>
- Zhang, Q., Huang, C., Wang, C., & Cao, S. (2023). Structural characteristics and reactivity of lignin in bamboo biomass. *Bioresource Technology*, 367, 128271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128271>

Producción de EPA y fucoxantina con *Phaeodactylum tricornutum* y su interacción con el receptor PPAR usando un enfoque *in silico*

Production of EPA and fucoxanthin from *Phaeodactylum tricornutum* and their interaction with the receptor PPAR using an *in silico* approach

Takebayashi-Caballero Noemi¹, Rico-Chávez Amanda Kim¹, Reynoso-Camacho Rosalía¹, Feregrino-Pérez Ana Angélica², Castaño-Meneses Víctor Manuel³, Amaya-Llano Silvia Lorena¹, Regalado-González Carlos^{1*}

¹Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Querétaro, Qro., 76010, México

²Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

³Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro, Qro., 76230, México.

takebayashinoemi@gmail.com; regcarlos@gmail.com

RESUMEN:

Phaeodactylum tricornutum es una microalga productora de omega-3 (EPA) y carotenoides (fucoxantina), asociados con efectos benéficos a la salud. Se evaluó la producción de carotenoides y EPA bajo diferentes condiciones de cultivo, tales como mixotrofia y autotrofia, así como el potencial de interacción de EPA y fucoxantínol para estimar su efecto combinado en la ocupación del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR α) mediante herramientas *in silico*. El acoplamiento molecular reveló que ambos compuestos presentan afinidad hacia PPAR α , con valores de la constante de disociación en el rango micromolar (6.35 μ M para EPA y 1.63 μ M para fucoxantínol). Se desarrolló un modelo de superficie de respuesta que integró la concentración y afinidad de ambos compuestos mediante la función de ocupación del receptor. El modelo permitió identificar una combinación óptima de 1385 mg/día de EPA y 32 mg/día de fucoxantínol, que maximiza la ocupación teórica de PPAR α dentro del rango evaluado, evidenciando un comportamiento no lineal con efecto de saturación. Estos resultados constituyen una predicción matemática derivada del modelo computacional y proporcionan una base para futuros estudios experimentales destinados a evaluar la activación funcional de PPAR α y sus posibles implicaciones en la regulación del metabolismo lipídico.

PALABRAS CLAVE: omega-3, microalga, fucoxantina, autotrofia, mixotrofia

ABSTRACT:

Phaeodactylum tricornutum is a microalga known for producing omega-3 fatty acids (EPA) and carotenoids (fucoxanthin), which have been associated with beneficial health effects. In this study, pigment and EPA production were evaluated under different cultivation conditions, such as mixotrophy and autotrophy, along with the potential interaction of EPA and fucoxanthinol to estimate their combined effect on the interaction with the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR α) using *in silico* approaches. Molecular docking analysis revealed that both compounds exhibit affinity toward PPAR α , with dissociation constant (Kd) values in the micromolar range (6.35 μ M for EPA and 1.63 μ M for fucoxanthinol). A response surface model was developed to integrate the concentration and affinity of both compounds through a receptor occupancy function (f total). The model identified a combination of 1385 mg/day of EPA and 32 mg/day of fucoxanthinol that maximized the theoretical occupancy of PPAR α within the evaluated range, exhibiting a nonlinear behavior with a saturation effect. These findings represent a mathematical prediction derived from the computational model and provide a basis for future experimental studies aimed at evaluating the functional activation of PPAR α and its potential role in the regulation of lipid metabolism.

KEYWORDS: omega-3, microalgae, fucoxanthin, autotrophy, mixotrophy

INTRODUCCIÓN

P. tricornutum es una diatomea unicelular diploide del fitoplancton (Sprecher et al., 2023) que puede crecer mediante diferentes modos de nutrición, como el autotrófico, el heterotrófico y el mixotrófico. En modo autotrófico, utiliza la luz como fuente de energía y fija el CO₂ mediante la fotosíntesis, generando ATP y NADPH en los tilacoides del plastidio y sintetizando carbohidratos mediante el ciclo de Calvin. En condiciones heterotróficas, cuando no hay luz, *P. tricornutum* obtiene energía a partir de compuestos orgánicos mediante la glucólisis, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones. Bajo condiciones mixotróficas, combina ambos mecanismos, utilizando simultáneamente la fotosíntesis y la captación de carbono orgánico (Abreu et al., 2022). Estas diferencias metabólicas se reflejan en el tiempo de duplicación (TD), definido como el período necesario para que una población duplique su número de células. En este sentido, cuanto más corto sea el TD, más rápido crecerá el cultivo. Por ejemplo, Kim et al. (2016) reportaron valores de TD de 13.9 h en autotrofia, 21 h en heterotrofia y apenas 6.9 h en mixotrofia.

P. tricornutum sintetiza ácidos grasos omega-3 como parte de su metabolismo. Los omega-3 desempeñan funciones esenciales tanto en la fisiología de las microalgas como en la salud humana. En *P. tricornutum*, los omega-3 son un componente estructural de las membranas celulares, especialmente de los tilacoides del plastidio, donde contribuyen a mantener su fluidez e integridad (Zakaria et al., 2025). En humanos, los ácidos grasos omega-3 confieren múltiples beneficios para la salud. Se ha demostrado que contribuyen a reducir los niveles de triglicéridos plasmáticos, favorecen el control de la presión arterial y disminuyen la agregación plaquetaria, efectos que, en conjunto, se asocian con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares (Alagawany et al., 2022; Patted et al., 2024). En particular, un tipo de omega-3, el ácido eicosapentaenoico (EPA), aumenta la expresión del transportador de glucosa GLUT4 en el tejido muscular, lo que facilita la captación de glucosa (Farsi et al., 2014). Asimismo, estimula la secreción de adiponectina, una hormona producida por los adipocitos que mejora la sensibilidad a la insulina y ejerce efectos antiinflamatorios (Kapoor et al., 2021).

De manera complementaria, *P. tricornutum* sintetiza fucoxantina, un carotenoide que actúa como pigmento accesorio al absorber luz en torno a 450 nm y en el rango de 470 a 540 nm. Esta característica le permite captar la luz azul-verde que las clorofilas no absorben de manera eficiente, ampliando el espectro de radiación disponible para la fotosíntesis y favoreciendo el crecimiento de la microalga (Abdoul-Latif et al., 2024). En investigaciones recientes, la fucoxantina ha sido ampliamente descrita como un carotenoide con potente actividad antioxidante y antiinflamatoria, capaz de eliminar especies reactivas de oxígeno y modular vías clave de señalización celular, como NF-κB y las vías de señalización de MAPK (Guan et al., 2022).

El receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPARα) es un factor de transcripción que regula el metabolismo lipídico en humanos. PPARα se activa por ligandos específicos, como el EPA, forma un heterodímero con el receptor X de retinoides (RXR) y se une a elementos de respuesta específicos en el ADN, promoviendo la expresión de genes involucrados en la captación, el transporte y la β-oxidación de ácidos grasos, al tiempo que reduce la síntesis de triglicéridos y la inflamación (Ahmadi et al., 2023; Kapoor et al., 2021). Aunque la fucoxantina (Fx) y su principal metabolito, el fucoxantínol (FxOH), no actúan como agonistas directos de PPARα, se ha propuesto que sus efectos metabólicos se derivan de la modulación de vías de señalización dependientes de este receptor (Sayuti et al., 2023).

Para este proyecto se planteó la hipótesis de que la coexistencia natural de EPA y fucoxantina en *P. tricornutum* podría generar un efecto complementario o sinérgico en vías metabólicas dependientes de PPARα, contribuyendo a los beneficios metabólicos atribuidos a los componentes de *P. tricornutum*. En este contexto, las herramientas *in silico* representan una aproximación útil para explorar de manera preliminar las posibles interacciones entre compuestos bioactivos y sus blancos moleculares, así como para generar hipótesis que orienten estudios experimentales posteriores. Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del modo de cultivo sobre la producción de compuestos bioactivos (pigmentos y EPA) en *Phaeodactylum tricornutum*, así como analizar su potencial interacción con el receptor PPARα mediante acoplamiento molecular y modelado de superficie de respuesta, con el fin de estimar su efecto combinado en la ocupación del receptor.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales

La cepa de *Phaeodactylum tricornutum* se obtuvo del cepario del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE, Baja California, México). El medio de cultivo F/2 de Guillard se preparó con agua de mar PANAKos® filtrada (México) suplementada con soluciones estériles de nitrato de sodio (NaNO_3), fosfato monobásico de sodio monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), metasilicato de sodio nonahidratado ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), solución de elementos traza y solución vitamínica. Para la preparación de la solución de elementos traza se emplearon cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), EDTA disódico dihidratado ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), molibdato de sodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y cloruro de manganeso tetrahidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). La solución vitamínica estuvo compuesta por tiamina (vitamina B_1), biotina (vitamina H) y cianocobalamina (vitamina B_{12}). Para establecer las condiciones mixotróficas, se utilizó glicerol esterilizado en autoclave ($\geq 99\%$ de pureza, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como fuente de carbono orgánico, a una concentración final de 0.1 M.

2. Preparación del medio F/2

Se preparó el medio F/2 con las concentraciones indicadas en los Cuadros 1, 2 y 3. El medio se ajustó inicialmente a pH 7 (a lo largo del experimento no se volvió a ajustar el pH), se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min. Dicho procedimiento se obtuvo del Centro Nacional para Algas Marinas y Microbiota (National Center for Marine Algae and Microbiota; Guillard, 1975; Guillard & Ryther, 1962).

Cuadro 1. Composición del medio de cultivo F/2

Componente	Solución madre	Cantidad adicionada	Concentración molar final
NaNO_3	75 g/L en agua destilada	1.0 mL	8.82×10^{-4} M
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5 g/L en agua destilada	1.0 mL	3.62×10^{-5} M
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	30 g/L en agua destilada	1.0 mL	1.06×10^{-4} M
Solución de elementos traza	Ver Cuadro 2	1.0 mL	-
Solución vitamínica	Ver Cuadro 3	0.5 mL	-
Agua de mar	Panakos	Aforado a 1 L	

Cuadro 2. Composición de la solución de elementos traza

Componente	Solución madre	Cantidad	Concentración molar final en el medio
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	—	3.15 g	1.17×10^{-5} M
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	—	4.36 g	1.17×10^{-5} M
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	9.8 g/L	1.0 mL	3.93×10^{-8} M
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6.3 g/L	1.0 mL	2.60×10^{-8} M
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22 g/L	1.0 mL	7.65×10^{-8} M
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10 g/L	1.0 mL	4.20×10^{-8} M
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	180 g/L	1.0 mL	9.10×10^{-7} M

Cuadro 3. Composición de la solución vitamínica

Componente	Solución madre	Cantidad	Concentración molar final en el medio
Clorhidrato de tiamina (Vitamina B ₁)	—	200 mg	2.96×10^{-7} M
Biotina (Vitamina H)	0.1 g/L	10.0 mL	2.05×10^{-9} M
Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂)	1.0 g/L	1.0 mL	3.69×10^{-10} M

3. Crecimiento de *P. tricornutum*

P. tricornutum se cultivó en medio F/2 de Guillard bajo condiciones autotróficas y mixotróficas. Los cultivos fueron inoculados al 10% v/v utilizando una suspensión de *P. tricornutum* obtenida de un cultivo previo en fase logarítmica media, con una densidad óptica a 750 nm de 0.8. En los tratamientos mixotróficos, el medio se suplementó con glicerol 0.1 M (esterilizado por autoclave junto con los demás ingredientes del medio de cultivo) como fuente de carbono orgánico, mientras que los tratamientos autotróficos se cultivaron únicamente en medio F/2. Los cultivos se incubaron a 20 ± 1 °C en una cava de vinos termoeléctrica (Gutstark, modelo mkz.cavae32boneg, Coyoacán, CDMX, México), bajo iluminación continua (24:0 h:h luz:oscuridad) proporcionada por una lámpara de luz blanca de 40 W con una intensidad aproximada de $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los cultivos se realizaron en matraz Erlenmeyer de 500 mL con cultivo de trabajo de 250 mL, sin aireación, aunque los cultivos se homogeneizaron mediante agitación manual cada 8 h, con el fin de evitar la sedimentación celular y favorecer una distribución uniforme de las células y los nutrientes en el medio. El crecimiento se monitoreó mediante la determinación de la densidad óptica a 750 nm (OD_{750}) utilizando una cubeta con una longitud de trayectoria óptica de 1 cm. Las mediciones se realizaron al día 10 tras la inoculación.

4. Cuantificación de carotenoides

Para la cuantificación de carotenoides (como aproximación de la fucoxantina), se tomó 1 mL de cultivo, que se centrifugó a $5300 \times g$ durante 10 min, se añadió 1 mL de DMSO al pellet y se incubó en la oscuridad a 6 ± 2 °C durante 48 h. Posteriormente, se centrifugó nuevamente y se midió la absorbancia del sobrenadante a 480, 630, 649 y 665 nm. La cuantificación de carotenoides se realizó mediante la ecuación 1 (Ritchie et al., 2022):

$$\text{Carotenoides totales} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{1000(A_{480}) - 1.29(\text{Chl } a) - 53.78(25.06A_{649} - 6.5A_{665})}{220} \quad (1)$$

5. Determinación de la biomasa y lípidos

La biomasa se determinó al final del cultivo mediante el peso seco (n=3). Un volumen conocido del cultivo se centrifugó; la biomasa recuperada se lavó con agua destilada, se secó a 40 °C hasta peso constante y los resultados se expresaron en g/L de cultivo.

Los lípidos totales se extrajeron de la biomasa de *P. tricornutum* mediante el método de Bligh y Dyer modificado (n=3) (Breil et al., 2017). La fracción lipídica se recuperó tras la separación de fases con KCl al 0.58 % y se cuantificó gravimétricamente tras la evaporación del disolvente.

6. Cuantificación de EPA

Los ácidos grasos se esterificaron con grupos metilo y se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), según el procedimiento descrito por Soares et al. (2019), en duplicado. Para cada pico, se integró el área bajo la curva correspondiente. El EPA se calculó mediante la ecuación 2. La concentración de EPA (mg/L) se calculó multiplicando el % de EPA por la concentración de lípidos totales.

$$\text{EPA (\%)} = \frac{\text{Área de EPA}}{\text{Sumatoria de áreas}} \quad (2)$$

7. Preparación del receptor para el acoplamiento molecular y de los ligandos

Se seleccionó al receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR α), porque es el principal receptor implicado en la regulación de la β -oxidación de ácidos grasos y una de las principales dianas moleculares a través de las cuales el EPA ejerce sus efectos antiinflamatorios. La estructura se obtuvo del Protein Data Bank (PDB, ID: 2ZNN) y corresponde a una estructura resuelta por difracción de rayos X y cristalizada en complejo con el agonista sintético TIPP703. La selección de esta estructura se debió a que representa el dominio de unión funcional de PPAR α y contiene un agonista cocrystalizado que permite identificar con precisión el bolsillo de unión del receptor. La estructura se preparó en UCSF Chimera. Inicialmente, se inspeccionó la proteína para identificar el ligando cocrystalizado (TIPP703) y verificar la localización del sitio activo. Posteriormente, se eliminaron el ligando, las moléculas de agua y otros heteroátomos no esenciales para obtener una estructura limpia del receptor destinada al acoplamiento molecular. El centro geométrico del sitio de unión se determinó a partir de la posición del ligando cocrystalizado y se utilizó como referencia para corroborar la cavidad de unión identificada durante el proceso de docking.

Los ligandos evaluados fueron el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el fucoxantínol, principal metabolito de la fucoxantina. Las estructuras químicas de ambos compuestos se obtuvieron de la base de datos pública PubChem (ID 5282847 para EPA e ID 11273547 para fucoxantínol) en formato SDF (Structure Data File).

8. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se realizó con CB-Dock2, una plataforma web que identifica automáticamente cavidades potenciales de unión mediante un procedimiento de blind docking y calcula la afinidad ligando-receptor con el motor de búsqueda AutoDock Vina.

La estructura preparada del receptor PPAR α se utilizó como macromolécula de entrada, mientras que las estructuras tridimensionales de EPA y fucoxantínol, obtenidas de PubChem, se emplearon como ligandos independientes. Para cada compuesto, CB-Dock2 detectó automáticamente las cavidades potenciales de unión presentes en el receptor, energías de unión (ΔG) y aminoácidos involucrados en la unión. La constante de disociación (Kd) se obtuvo a partir de la ecuación 3.

$$Kd = e^{\Delta G/0.5929} \quad (3)$$

Se realizó un diseño factorial con EPA (dosis diaria de 100-2000 mg/día) y fucoxantínol (dosis diaria de 2-40 mg/día). Para cada mezcla, se calculó la ocupación de receptor (f total) usando la ecuación 4 y se modeló mediante una superficie de respuesta, únicamente como herramienta estadística para describir el comportamiento de f total en los rangos de dosis evaluados. El modelado se realizó en R.

$$f_{total} = \frac{\frac{C_{EPA}}{Kd_{EPA}} + \frac{C_{Fx}}{Kd_{Fx}}}{1 + \frac{C_{EPA}}{Kd_{EPA}} + \frac{C_{Fx}}{Kd_{Fx}}} \quad (4)$$

Donde C_{EPA} = concentración equivalente de EPA calculada a partir de la dosis; C_{Fx} = concentración equivalente de fucoxantínol calculada a partir de la dosis; Kd_{EPA} = Kd estimado de EPA; Kd_{Fx} = Kd estimado de fucoxantínol

9. Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado biológico (n = 3) y únicamente la cromatografía de gases se realizó por duplicado (n=2). Los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar y, para determinar si existía una diferencia significativa, se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Phaeodactylum tricornutum se cultivó en condiciones estándar a 20 ± 1 °C, bajo luz continua, manteniendo constante el glicerol (0,1 M), sin suministro de CO₂, en medio F/2. Se midió la densidad óptica a 750 nm, una medida indirecta del crecimiento de microalgas. Al día 10, se obtuvo $A_{750} = 0.35 \pm 0.03$ para el cultivo autotrófico y $A_{750} = 0.90 \pm 0.05$ para el cultivo mixotrófico. Kim et al. (2016) obtuvieron mayor tiempo de duplicación para el cultivo autotrófico (13.9 h) comparado con el mixotrófico (6.9 h).

Asimismo, al día 10 se midieron los carotenoides (como una estimación de fucoxantina), obteniéndose 7.66 ± 0.80 µg/ml en el cultivo autotrófico y 4.40 ± 0.39 µg/ml en el cultivo mixotrófico. Al no depender de una fuente de carbono, la fotosíntesis resulta primordial para el crecimiento de la microalga (Abreu et al., 2022). Los pigmentos de *P. tricornutum* se encuentran en el complejo fucoxantina-clorofila de las membranas tilacoidales. La fucoxantina actúa como pigmento antena, ayudando a captar la luz y a transferir la energía a la clorofila a (Songaila et al., 2013). En cambio, bajo condiciones de mixotrofia, la microalga puede recurrir a la glucólisis, al ciclo de Krebs y al transporte de electrones, así como a la fotosíntesis (Abreu et al., 2022). Por ello, en cultivos autotróficos la concentración de fucoxantina es mayor, como se observa a simple vista en la Figura 1, a pesar de presentar una menor densidad óptica a 750 nm (indicativa de la biomasa celular).



Figura 1. Imagen representativa de las fermentaciones; cultivo autotrófico (a la izquierda) y cultivo mixotrófico (a la derecha).

Posteriormente, se cuantificaron la biomasa y los lípidos por gravimetría, los cuales se muestran en el Cuadro 4. Además, se corrieron las muestras en cromatógrafo de gases (Figura 2). En ambas muestras se observaron diversos ácidos grasos mayoritarios, entre ellos metil tetradecanoato (12 min), metil palmitato (C16:0; 14-15 min) y metil oleato (C18:1; 18 min), como se muestra en la Figura 2. También se observó un pico a los 29 min que corresponde a EPA. En el caso del cultivo mixotrófico, se obtuvo 31.22 ± 3.67 mg EPA L⁻¹ de cultivo, mientras que el cultivo autotrófico presentó 8.31 ± 0.08 mg EPA L⁻¹ de cultivo (Cuadro 4). Esto puede deberse a que el glicerol, además de estimular el crecimiento, en exceso puede redirigir el metabolismo hacia la producción de ácidos grasos (Cerón-García et al., 2013). Rehmanji et al. (2022) demostraron que, en condiciones mixotróficas, el glicerol aumenta la producción de EPA hasta 27 mg/L. Asimismo, Cerón García et al. (2005) observaron que la adición de glicerol (0.1 M) aumentó la productividad de EPA de 3.35 mg L⁻¹ día⁻¹ a 8.56 mg L⁻¹ día⁻¹. Por lo tanto, para producir un suplemento, se podría proponer extraer fucoxantina en condiciones autotróficas, mientras que el EPA se podría obtener en condiciones mixotróficas.

Cuadro 4. Comparación de la biomasa, contenido lipídico y producción de EPA de *P. tricornutum* en cultivos autotróficos y mixotróficos.

Parámetro	Autotrofia	Mixotrofia
Biomasa (g L ⁻¹)	0.94 ± 0.05b	1.55 ± 0.11a
Lípidos (g L ⁻¹)	0.44 ± 0.04b	0.59 ± 0.04a
EPA (mg L ⁻¹)	8.31 ± 0.08b	31.22 ± 3.67a

Los resultados se presentan como media ± desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo a Tukey ($p < 0.05$).

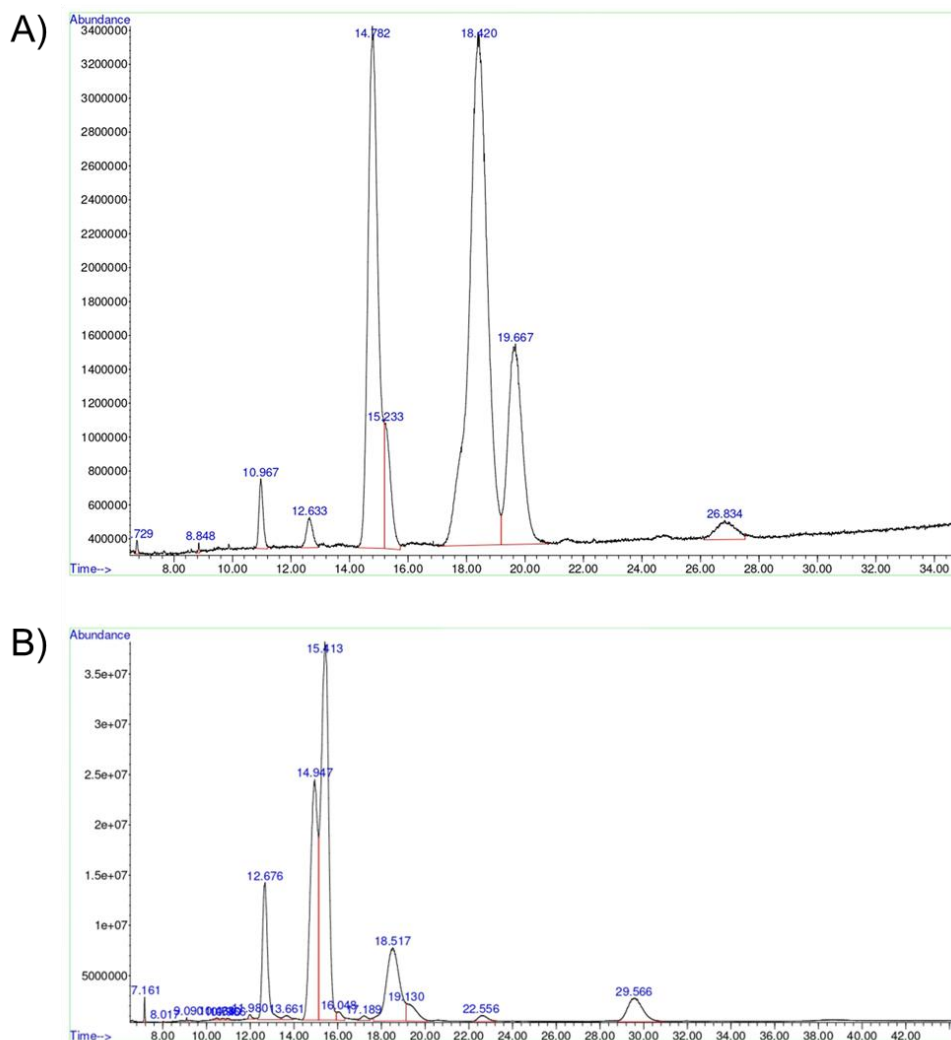


Figura 2. Cromatogramas del perfil lipídico de *P. tricornutum*. A) cultivo autotrófico, B) cultivo mixotrófico.

Se realizó un análisis de acoplamiento molecular (Figura 3) utilizando como proteína blanco el receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR α). Se evaluó la interacción entre dos compuestos derivados de *P. tricornutum*: EPA y fucoxantíol. En ambos casos, los ligandos se localizaron en el sitio de unión al receptor, lo

que sugiere una afinidad potencial por el receptor PPAR α . Cabe destacar que no se incluyó un agonista de referencia como control positivo, ya que el estudio no tuvo como finalidad validar el protocolo de docking, sino estimar comparativamente la afinidad de unión y la ocupación teórica del receptor.

En comparación con el EPA, el fucoxantínol interactúa con un conjunto más diverso de aminoácidos, lo que sugiere una unión más específica y potencialmente más estable en el sitio activo de PPAR α , lo cual se refleja en un Kd de 6.3 μ M para el EPA y de 1.6 μ M para el fucoxantínol. El Kd representa la afinidad del ligando por la proteína, donde valores más bajos indican una mayor estabilidad del complejo proteína-ligando. A pesar de la diferencia entre ambos compuestos, ambos muestran afinidad en el rango micromolar.

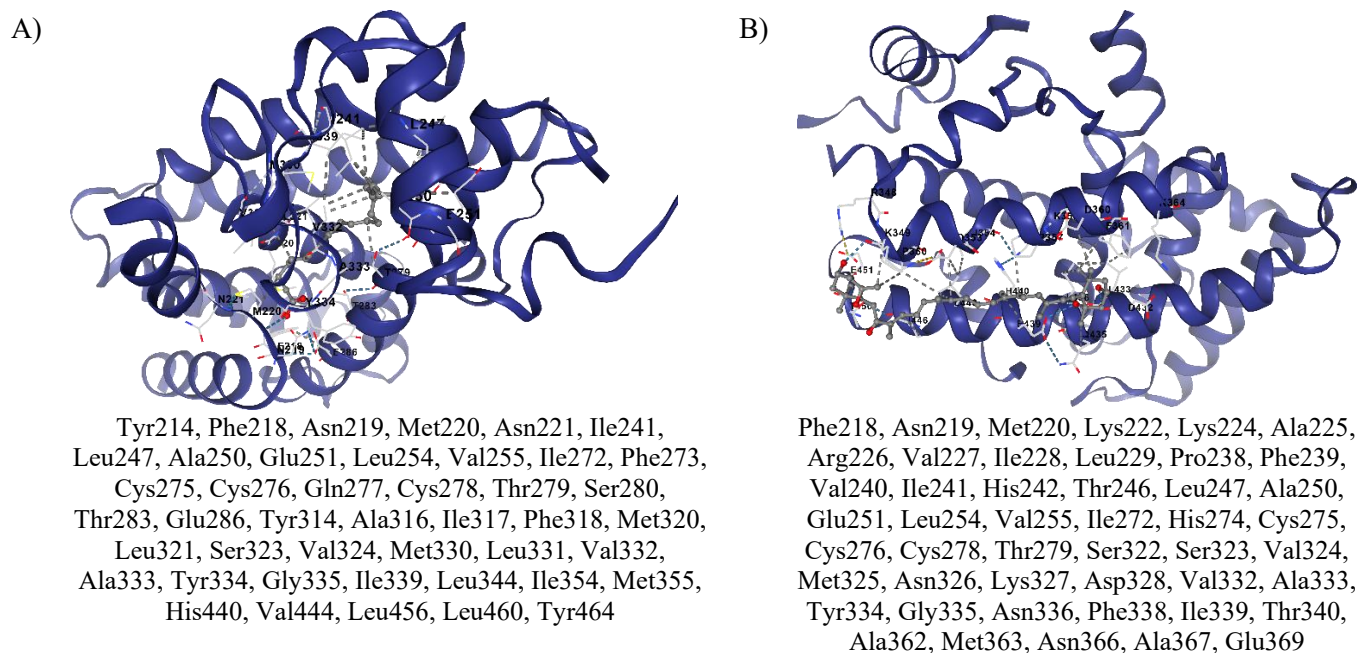


Figura 3. Interacción molecular entre el receptor PPAR α y los ligandos A) EPA y B) fucoxantínol (derecha) obtenida mediante docking molecular. Los residuos aminoácidos con los que interactúan se muestran en la parte inferior de la figura.

Se realizó un diseño experimental de dos factores utilizando Minitab®, considerando como variables independientes la dosis diaria de EPA (100-2000 mg/día) y la dosis diaria de fucoxantínol (2-40 mg/día). Se incluyeron múltiples niveles intermedios de ambas variables para evaluar su efecto combinado sobre la interacción con el receptor PPAR α mediante un modelo de superficie de respuesta. A partir de las constantes de disociación (Kd) obtenidas mediante docking molecular, se estimó la fracción de ocupación del receptor PPAR α considerando la contribución conjunta de EPA y fucoxantínol en función de sus concentraciones y sus respectivos valores de Kd (Figura 4). Cabe destacar que el presente estudio evaluó únicamente la afinidad de unión y la ocupación teórica del sitio de unión de PPAR α mediante acoplamiento molecular. En consecuencia, los resultados no permiten determinar si EPA y fucoxantínol actúan como agonistas completos, parciales o moduladores del receptor, ni establecer los cambios conformacionales en el dominio de PPAR α . Para determinar dichos mecanismos, se requieren estudios adicionales que quedan fuera del alcance de este trabajo.

Se obtuvo el siguiente modelo matemático

$$f_{total} = 1.0 + 1.6 \times 10^{-5}(A) + 6.9 \times 10^{-5}(B) - 4 \times 10^{-8}(A \times B) - 5.2 \times 10^{-9}(A)^2 - 1.7 \times 10^{-7}(B)^2$$

Donde A corresponde a EPA y B a fucoxantanol. Se obtuvo una R^2 de 82%

Es importante aclarar que, el modelo matemático describe el comportamiento únicamente dentro de los intervalos de dosis evaluados y constituye la base para la construcción de la superficie de respuesta mostrada en la Figura 4. En consecuencia, la ecuación no debe extrapolarse fuera de dichos rangos.

Tomando en cuenta la aclaración anterior y considerando únicamente los rangos evaluados, el punto máximo se obtuvo con 1385 mg/día de EPA y 32 mg/día de fucoxantanol, que maximiza la ocupación teórica del receptor $PPAR\alpha$. Sin embargo, se observa un comportamiento de saturación, en el que incrementos adicionales de la concentración de los compuestos producen cambios cada vez menores en la respuesta.

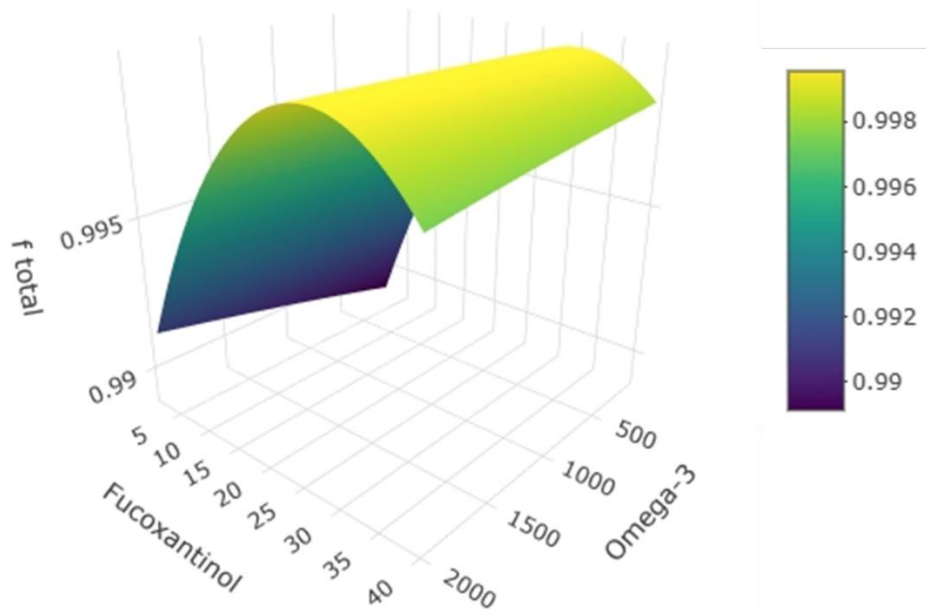


Figura 4. Superficie de respuesta (RSM) que muestra el efecto combinado de EPA y fucoxantanol sobre la función de ocupación del receptor $PPAR\alpha$ (f total).

Es importante señalar que el modelo propuesto se fundamenta en parámetros obtenidos mediante acoplamiento molecular y en una estimación basada en la ocupación teórica del receptor. En consecuencia, no considera procesos farmacocinéticos como la absorción, la distribución, el metabolismo, la excreción o la biodisponibilidad diferencial de EPA y fucoxantanol, ni la conversión intestinal de la fucoxantina a fucoxantanol. Por ello, la combinación óptima predicha corresponde a una estimación basada en un modelo matemático dentro de las condiciones evaluadas y requiere validación mediante estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* antes de considerarse una recomendación biológica o clínica.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que *Phaeodactylum tricornutum* es una fuente relevante de compuestos bioactivos, como el EPA y los carotenoides, cuya producción depende de las condiciones de cultivo. Asimismo, el análisis *in silico* mostró que tanto el EPA como el fucoxantanol presentan afinidad de unión a $PPAR\alpha$, destacando este último por su mayor capacidad de interacción. La integración de estos datos mediante un modelo de superficie

de respuesta permitió identificar una combinación que maximiza la ocupación teórica del receptor dentro del rango evaluado y constituye una predicción matemática derivada del modelo computacional, con comportamiento no lineal y efecto de saturación. En este sentido, futuros estudios podrían enfocarse en evaluar experimentalmente la activación de PPAR α mediante ensayos *in vivo* e *in vitro*, aplicando técnicas como RT-qPCR y Western blot, con el fin de determinar si la interacción predicha se traduce en cambios en vías relacionadas con el metabolismo lipídico y la homeostasis energética.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdoul-Latif, F. M., Ainane, A., Houmed Aboubaker, I., Merito Ali, A., Mohamed, H., Jutur, P. P., & Ainane, T. (2024). Unlocking the green gold: Exploring the cancer treatment and the other therapeutic potential of fucoxanthin derivatives from microalgae. *Pharmaceuticals*, 17(7), 960. <https://doi.org/10.3390/ph17070960>
- Abreu, A. P., Morais, R. C., Teixeira, J. A., & Nunes, J. (2022). A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 159, 112247. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- Ahmadi, A. R., Shirani, F., Abiri, B., Siavash, M., Haghighi, S., & Akbari, M. (2023). Impact of omega-3 fatty acids supplementation on the gene expression of peroxisome proliferator activated receptors- γ , α and fibroblast growth factor-21 serum levels in patients with various presentation of metabolic conditions: A GRADE assessed systematic review and dose–response meta-analysis of clinical trials. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1202688>
- Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., El-Sabrou, K., Alqaisi, O., Dawood, M. A. O., Soomro, H., & Abdelnour, S. A. (2022). Nutritional significance and health benefits of omega-3, -6 and -9 fatty acids in animals. *Animal Biotechnology*, 33(7), 1678–1690. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1869562>
- Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). “Bligh and Dyer” and Folch methods for solid–liquid–liquid extraction of lipids from microorganisms. Comprehension of solvation mechanisms and towards substitution with alternative solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 708. <https://doi.org/10.3390/ijms18040708>
- Cerón García, M. C., Sánchez Mirón, A., Fernández Sevilla, J. M., Molina Grima, E., & García Camacho, F. (2005). Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Process Biochemistry*, 40(1), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.016>
- Cerón-García, M. C., Fernández-Sevilla, J. M., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., Contreras-Gómez, A., & Molina-Grima, E. (2013). Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on fructose and glycerol in fed-batch and semi-continuous modes. *Bioresource Technology*, 147, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.092>
- Farsi, P. F., Djazayery, A., Eshraghian, M. R., Koohdani, F., Saboor-Yaraghi, A. A., Derakhshanian, H., Zarei, M., Javanbakht, M. H., & Djalali, M. (2014). Effects of supplementation with omega-3 on insulin sensitivity and non-esterified free fatty acid (NEFA) in type 2 diabetic patients. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 58(4), 335–340. <https://doi.org/10.1590/0004-2730000002861>
- Guan, B., Chen, K., Tong, Z., Chen, L., Chen, Q., & Su, J. (2022). Advances in Fucoxanthin Research for the Prevention and Treatment of Inflammation-Related Diseases. *Nutrients*, 14(22), 4768. <https://doi.org/10.3390/nu14224768>

- Guillard, R. R. L. (1975). Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In W. L. Smith & M. H. Chanley (Eds), *Culture of Marine Invertebrate Animals: Proceedings—1st Conference on Culture of Marine Invertebrate Animals Greenport* (pp. 29–60). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3
- Guillard, R. R. L., & Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms: I. *cyclotella nana* hustedt, and *detonula confervacea* (cleve) gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Kapoor, B., Kapoor, D., Gautam, S., Singh, R., & Bhardwaj, S. (2021). Dietary polyunsaturated fatty Acids (PUFAs): Uses and potential health benefits. *Current Nutrition Reports*, 10(3), 232–242. <https://doi.org/10.1007/s13668-021-00363-3>
- Kim, J., Fabris, M., Baart, G., Kim, M. K., Goossens, A., Vyverman, W., Falkowski, P. G., & Lun, D. S. (2016). Flux balance analysis of primary metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *The Plant Journal*, 85(1), 161–176. <https://doi.org/10.1111/tpj.13081>
- Patted, P. G., Masareddy, R. S., Patil, A. S., Kanabargi, R. R., & Bhat, C. T. (2024). Omega-3 fatty acids: A comprehensive scientific review of their sources, functions and health benefits. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00667-5>
- Rehmanji, M., Nesamma, A. A., Khan, N. J., Fatma, T., & Jutur, P. P. (2022). Media engineering in marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* employing cost-effective substrates for sustainable production of high-value renewables. *Biotechnology Journal*, 17(10), e2100684. <https://doi.org/10.1002/biot.202100684>
- Ritchie, R. J., Sma-Air, S., & Dumme, V. (2022). DMSO formula for chlorophyll determination in dinoflagellates (Chl a + c2). *Journal of Applied Phycology*, 34(1), 335–341. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02615-9>
- Sayuti, N. H., Muhammad Nawawi, K. N., Goon, J. A., Mokhtar, N. M., Makpol, S., & Tan, J. K. (2023). A Review of the Effects of Fucoxanthin on NAFLD. *Nutrients*, 15(8), 1954. <https://doi.org/10.3390/nu15081954>
- Soares, A. T., Da Costa, D. C., Vieira, A. A. H., & Antoniosi Filho, N. R. (2019). Analysis of major carotenoids and fatty acid composition of freshwater microalgae. *Heliyon*, 5(4), e01529. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01529>
- Songaila, E., Augulis, R., Gelzinis, A., Butkus, V., Gall, A., Büchel, C., Robert, B., Zigmantas, D., Abramavicius, D., & Valkunas, L. (2013). Ultrafast Energy Transfer from Chlorophyll c2 to Chlorophyll a in Fucoxanthin–Chlorophyll Protein Complex. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 4(21), 3590–3595. <https://doi.org/10.1021/jz401919k>
- Sprecher, B. N., Buck, J. M., Ropella, L. L., Ramsperger, A., Kroth, P. G., & Yamada, N. (2023). Genetic transformation methods for diatom *Nitzschia captiva*: New tools to better understand dinotom endosymbiosis. *Algal Research*, 72, 103136. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103136>
- Zakaria, M. F., Mat Zaidi, F. N. A., Ahmad Kamal, A. H., Aleng, N. A., Abd Wahid, M. E., Katayama, T., & Jusoh, M. (2025). PUFA from microalgae: Challenges, factors affecting high production and industrial application. *Aquaculture and Fisheries*, 11. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2025.01.004>

Tratamientos térmicos con microondas y su efecto en las propiedades fisicoquímicas de maíz morado

Microwave Heating Treatments and Their Effects on the Physicochemical Properties of Purple Corn

Tapia Guerrero D. S.¹, Fernández Villanueva I. ², Flores Sánchez M. G.¹, Cerón García A.¹ y Sosa Morales M. E.^{1*}

¹ Departamento de Alimentos, ² Departamento de Ciencias Ambientales. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

msosa@ugto.mx*

Resumen

Se diseñaron y aplicaron tratamientos con microondas en lotes de 500 g de maíz morado (*Zea mays* L.) a potencias de 288 y 562 W, con el objetivo de alcanzar la temperatura de 70°C, reportada como eficiente contra mohos fitopatógenos. Posterior al calentamiento, se realizó un enfriamiento con aire forzado para detener los efectos del calentamiento y llegar a una temperatura ambiente (menor a 30°C). Las propiedades fisicoquímicas en los lotes tratados fueron determinadas con el fin de determinar posibles efectos de los tratamientos. El contenido de humedad no fue afectado por los tratamientos ($p>0.05$), así como la actividad de agua de los granos tratados a 288 W, la cual fue similar al control ($p>0.05$). Así mismo, para los parámetros de color estimados (L^* , a^* , b^* , C^* , H^* y ΔE), no se presentaron cambios entre el maíz tratado y el control ($p>0.05$). Los tratamientos con microondas estudiados no afectaron las principales propiedades fisicoquímicas en maíz morado. Se requieren análisis microbiológicos posteriores para considerar el tratamiento como una opción postcosecha.

Palabras clave: *Maíz morado, calentamiento con microondas, color, actividad de agua.*

Abstract

Microwave treatments were designed and applied in batches of 500 g of purple corn (*Zea mays* L.) at power levels of 288 and 562 W, with the objective of reaching the target temperature of 70°C reported as efficient against phytopathogenic molds. After heating, forced air cooling was carried out to stop the effects of heating and reach an ambient temperature (below 30°C). The physicochemical properties in the treated batches were determined to determine possible effects. The moisture content was not affected by the treatments ($p>0.05$), as well as the water activity of the grains treated at 288 W, which was similar to the control ($p>0.05$). Likewise, for the estimated color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* , H^* , and ΔE), no changes were observed between the treated corn and the control batch ($p>0.05$). Therefore, the studied microwave treatments did not affect the main physicochemical properties of purple corn. Further microbiological analyses are required to consider the treatment as postharvest option.

Keywords: purple corn, microwave heating, color, water activity.

Introducción

El maíz morado (*Zea mays L.*), es originario de la región andina peruana. Debido a su color púrpura, los pigmentos del maíz morado se han utilizado durante mucho tiempo para pigmentar alimentos y bebidas. Su color se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos como las antocianinas, éstas tienen propiedades nutraceuticas, antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas y anticarcinogénicas que contribuyen a la prevención de enfermedades relacionadas con el estilo de vida, como la obesidad, la diabetes y la hipertensión (Lao et al., 2017). Además de las antocianinas, el maíz morado contiene fitoquímicos como fenoles, flavonoides, ácido ferúlico, luteína, zeaxantina, criptoxantina, beta-carotenos, entre otros. Se ha observado que estas sustancias previenen el envejecimiento celular y la aparición de enfermedades degenerativas. (SAGARPA, 2017). La cianidina-3-glucósido, principal antocianina del maíz morado tiene un efecto protector sobre la escisión del ADN, una actividad de eliminación de radicales libres dependiente de la dosis, además de un potencial en la prevención del cáncer de colon, reducción de la inflamación e hiperplasia causada por estrés oxidativo severo y daño a las células de la piel por la radiación UV-B (Lieberman, 2007).

Después de la cosecha, el maíz está expuesto a condiciones ambientales variables que ponen en riesgo la calidad del grano desde el almacenamiento hasta el procesamiento (Abdullahi y Dandago, 2021). Las pérdidas en el almacenamiento pueden ser hasta del 30 al 40%, asociadas principalmente al desarrollo de hongos productores de micotoxinas y con ello, la generación de metabolitos secundarios altamente tóxicos que afectan la calidad del grano (SAGARPA, 2016). La seguridad alimentaria se ve comprometida por la capacidad que tienen algunas cepas de producir micotoxinas, estos metabolitos se han asociado a intoxicaciones agudas y enfermedades crónicas que afectan órganos vitales como el riñón, hígado y pulmones; además de alteraciones en el sistema inmunológico, sistema nervioso, genotoxicidad y carcinogénesis (Abrehame et al., 2023). Las principales especies productoras de micotoxinas son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, siendo las principales *A. flavus* y *A. parasiticus* (Martínez Batista et al., 2025).

Para inhibir el crecimiento de estos hongos se ha optado por métodos físicos para el control de fitopatógenos durante el almacenamiento de granos, entre estos destacan los tratamientos térmicos como puede ser el uso de microondas, el cual ha resultado ser un método efectivo para reducir carga microbiana logrando mantener las propiedades de los alimentos (Trueba-Vázquez et al., 2019). Los tratamientos con microondas se consideran de bajo costo, destacando por su calentamiento rápido y relativamente uniforme respecto a métodos térmicos tradicionales, además de no generar residuos tóxicos. Particularmente, las microondas producen el calentamiento interno del alimento debido a la polarización iónica y consecuente fricción molecular con lo que se consigue eliminar microorganismos y/o inactivar enzimas. La principal desventaja de estos tratamientos es la falta de uniformidad en el calentamiento, por lo que se implementaron los platos rotatorios y se recomienda el uso de recipientes con esquinas redondeadas o circulares (Tang, 2015; González-Monroy et al., 2018). Sin embargo, a pesar de esta efectividad, estos tratamientos pueden inducir cambios en las propiedades físicas del grano. Por ello, el objetivo del presente trabajo es diseñar y aplicar tratamientos térmicos con microondas en maíz morado, así como determinar si los tratamientos afectan las propiedades físicas de los granos tratados.

Materiales y métodos

Materia prima

Se adquirió maíz morado (Figura 1) en la Central de Abastos de Irapuato, Gto. Se eliminaron los granos con defectos y el material seleccionado se almacenó a 4°C en bolsas de plástico resellables hasta su uso.



Figura 1. Maíz morado usado para el estudio.

Cálculo de la potencia de salida en horno de microondas

Se pesaron 1000 g de agua a temperatura ambiente (20-25°C) en un recipiente apto para su uso en horno de microondas, el cual se introdujo en el horno de microondas (LG, Modelo MS-0745VS, México) y se programó una potencia inicial de 10% por 3 min. Al finalizar el ciclo, se tomaron cinco lecturas de temperatura utilizando un termómetro infrarrojo. El agua utilizada se reemplazaba por agua nueva a temperatura ambiente para calentar a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100% de la potencia nominal, de acuerdo con el método IEC 60705 (Martin, 2008). Con los datos obtenidos se calculó la potencia en Watts de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$P = \frac{m * Cp * \Delta T}{t}$$

donde m es la masa de agua calentada (kg), Cp el calor específico del agua (kJ/kg°C), ΔT es la diferencia de temperatura (entre la inicial y al final del calentamiento, °C) y t el tiempo de calentamiento (s).

Tratamiento con microondas (MW)

Se partió de una unidad de 3 kg, del cual se conformaron lotes de maíz de 500 g. El diseño experimental consistió en evaluar tres potencias: 0 (control, sin calentamiento), 50 y 90% de potencia nominal, evaluadas por duplicado; las variables de respuesta se midieron por triplicado. Se registró la temperatura inicial del maíz antes del tratamiento. Posteriormente, los lotes se sometieron a calentamiento en el horno de microondas previamente descrito y se registró la temperatura en intervalos de 30 s. Este procedimiento se repitió sucesivamente hasta que el maíz alcanzara una temperatura de 70°C; esta temperatura ha sido reportada como adecuada contra mohos y bacterias patógenas en alimentos de baja humedad (Pérez-Reyes et al., 2021; Flores-Sánchez et al., 2026). Una vez alcanzada la temperatura objetivo, se inició el proceso de enfriamiento. Para ello, el maíz se sometió a una corriente de aire forzado (1 m/s) generada con ventilador de aspas, la temperatura en los granos de maíz se midió cada 30 s. El maíz se agitó lentamente para favorecer la disminución de la temperatura hasta que la temperatura fue inferior a 30°C. Como referencia, se dejó un lote sin tratamiento (control).

Análisis fisicoquímico

El contenido de humedad se determinó en las muestras control y en los lotes tratados. Cada muestra fue previamente triturada en un mortero. Posteriormente, se pesaron 3 g de muestra por duplicado y se sometieron a 105°C por 24 h en una estufa de secado (Shell Lab, USA). El color se determinó por triplicado usando un colorímetro (Color Flex EZ, CFE204483 HunterLab, USA), expresado en la escala CIElab. Para ello, se tomaron 20 g de granos de maíz en un vaso de precipitado de 50 mL y se midieron las coordenadas cromáticas L^* (luminosidad), a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo) en el colorímetro previamente calibrado con los mosaicos negro y blanco. Adicionalmente, se estimaron los parámetros Chroma ($C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$),

ángulo Hue ($H^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$) y la diferencia neta de color ($\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$) entre el control y las muestras tratadas con microondas. La actividad de agua (a_w) se midió usando un higrómetro eléctrico (Aqua Lab, CX2, Decagon Devices, WA, USA), el cual se calibró con carbón activado antes de realizar la lectura en 1 g de maíz triturado. Cada una de las variables fisicoquímicas evaluadas fueron medidas por triplicado. Para el caso de la medición de color las muestras fueron medidas por sextuplicado.

Análisis estadístico

Se verificó la normalidad de los datos (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de las varianzas, por lo que se realizó un ANOVA y una prueba de comparación de medias por el método de Duncan a un nivel de confianza del 95% usando el software Statgraphics (Statgraphics Centurion 16 software, StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA).

Resultados y discusión

La potencia de salida a 50 y 90% resultó ser 288 y 562 W, respectivamente. En estos niveles se obtuvo baja desviación estándar, por lo que fueron elegidas para los tratamientos. Los perfiles de temperatura durante el calentamiento y el enfriamiento de los lotes se muestran en las Figuras 2 y 3.

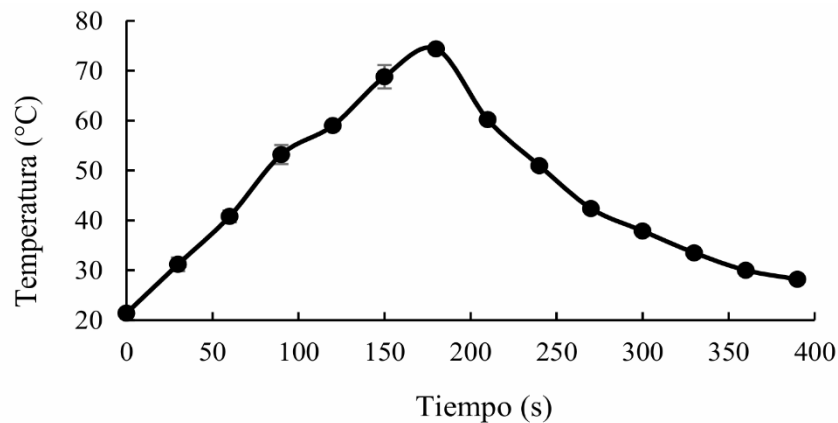


Figura 2. Curva de calentamiento-enfriamiento para tratamiento a 288 W (50% de potencia nominal) en maíz morado.

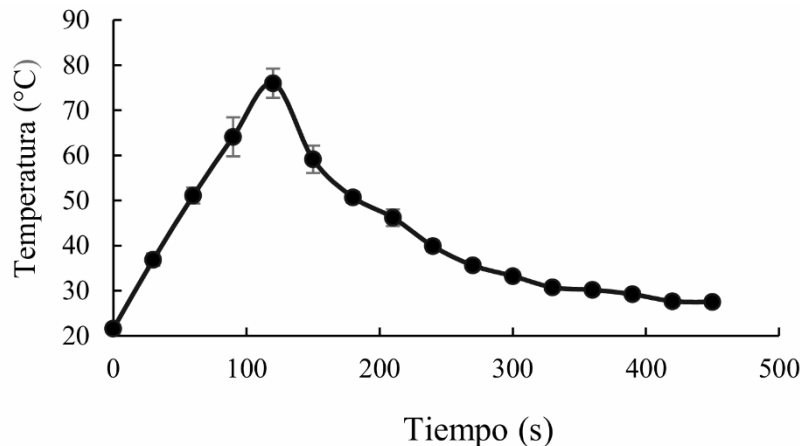


Figura 3. Curva de calentamiento-enfriamiento para tratamiento a 562 W (90% de potencia nominal) en maíz morado.

Al aplicar 288 W, el calentamiento duró 180 s, después de lo cual, tomó 210 s enfriar los lotes hasta lograr 28°C en los granos tratados. Para el caso de 562 W, el calentamiento tuvo una duración de 120 s hasta alcanzar 70°C (temperatura objetivo del calentamiento) y el enfriamiento tardó 330 s hasta alcanzar temperatura por debajo de 30°C (temperatura objetivo de la etapa de enfriamiento).

Los tratamientos con microondas no produjeron cambios significativos en el contenido de humedad ($p>0.05$), se presenta una mínima disminución de los tratamientos con respecto al control (Tabla 1). De acuerdo con la norma CXS 153-1985 (Codex Alimentarius Commission, 1985), el contenido de humedad máximo permitido en el maíz es de 15.5%, por lo tanto, se cumple este parámetro en el maíz morado. Sin embargo, se observó un incremento significativo ($p<0.05$) en la actividad de agua (a_w) en el tratamiento a 562 W en comparación con el control y el tratamiento a 288 W. Para este aumento observado, se elaboró la hipótesis de que podría estar asociado a una redistribución de la humedad interna del grano, el agua que estaba ligada a macromoléculas (almidón o proteínas) se vuelve más libre y el equipo detecte al maíz con mayor a_w . A pesar de este cambio, los valores de a_w se mantienen dentro de un rango bajo, lo que indica que el tratamiento no compromete de manera crítica la estabilidad del maíz.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de maíz morado control y después de los tratamientos con microondas.

Tratamiento	a_w	Contenido de humedad (% base húmeda)
Control	0.418 ± 0.012^a	9.99 ± 0.19^a
MW 288 W	0.428 ± 0.010^a	9.60 ± 0.21^a
MW 562 W	0.444 ± 0.007^b	9.70 ± 0.10^a

Promedios con la misma letra indican que no hay diferencia significativa entre ellos en cada columna ($p>0.05$).

En cuanto al color se obtuvieron cambios mínimos en los parámetros (L^* , a^* , b^*) del maíz morado, lo que indica que la apariencia, en cuanto a color se refiere, sigue conservándose (Tabla 2). El parámetro L^* sugiere que la luminosidad no se ve alterada por efecto de los tratamientos (53.54 a 53.88). Otros autores han reportado cambios en el color debido a tratamientos térmicos asociados a deshidratación superficial o redistribución de los pigmentos (Pathare et al., 2013). En el parámetro a^* y b^* no se presentaron cambios significativos para ambas coordenadas cromáticas ($p>0.05$). Respecto a los valores de Chroma (C^*) se aprecia que la saturación o fuerza de un color es baja (15.96 a 16.6) ofreciendo con ello un color de baja saturación o que tiende a ser grisáceo en el maíz, como puede observarse en la Figura 1. Lo anterior puede deberse a que los pigmentos como antocianinas no fueron degradados/oxidados por el tratamiento de forma significativa. Mientras tanto, para el parámetro del ángulo Hue (H^* entre los 43.11° y 44.1°) a pesar de corresponder a una tonalidad rojiza en el círculo cromático, por los valores de Chroma, su color tiende a ser rojo pálido. En cuanto a la diferencia neta de color (ΔE) no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$), además, no se obtuvieron valores mayores a ΔE de 5, por lo tanto, no son perceptibles las diferencias de color entre el maíz tratado por microondas y los parámetros de color de las muestras control (sin tratamiento térmico).

Con base en lo anterior, la aplicación de tratamientos térmicos a granos de maíz morado mediante el uso de microondas a 288 W y 562 W no altera sus propiedades fisicoquímicas. Lo anterior permite mantener los parámetros de calidad asociados a la apariencia típica de este grano. Resultados similares fueron reportados para otros granos, como trigo tratado con microondas a potencias entre 250 y 500 W (Vadivambal et al., 2007), maíz blanco a potencias de 293, 390 y 475 W (García-Mosqueda et al., 2019) y maíz palomero a 270 y 544 W (Trueba-Vázquez et al., 2019).

Sin embargo, se requieren estudios microbiológicos para comprobar la eficacia del tratamiento en la reducción de mohos.

Tabla 2. Parámetros de color en maíz morado antes y después de los tratamientos con microondas.

Tratamiento	Color CIEL*a*b*					
	L*	a*	b*	C*	H*	ΔE
Control	53.54 $\pm$ 2.27 ^a	9.61 $\pm$ 1.84 ^a	13.21 $\pm$ 1.96 ^a	16.41 $\pm$ 2.09 ^a	43.11 $\pm$ 3.23 ^a	0 ^a
MW 288 W	53.88 $\pm$ 1.99 ^a	9.08 $\pm$ 1.49 ^a	13.05 $\pm$ 1.14 ^a	15.96 $\pm$ 1.13 ^a	43.83 $\pm$ 2.83 ^a	3.61 $\pm$ 1.50 ^b
MW 562 W	53.81 $\pm$ 2.27 ^a	9.31 $\pm$ 1.09 ^a	13.69 $\pm$ 1.75 ^a	16.60 $\pm$ 1.68 ^a	44.10 $\pm$ 2.19 ^a	3.78 $\pm$ 1.24 ^b

Promedios con la misma letra indican que no hay diferencia significativa entre ellos en cada columna ($p > 0.05$).

Conclusiones

El tratamiento con microondas a potencias de 288 y 562 W aplicado a maíz morado no generó cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas evaluadas. El contenido de humedad no fue afectado por los tratamientos, mientras que los valores de actividad de agua (a_w) se mantuvieron dentro de un rango bajo, lo cual favorece la estabilidad de los granos. En cuanto al color, se observaron variaciones mínimas no significativas de los tratamientos respecto al control, lo que indica que la luminosidad, los parámetros cromáticos, al igual que la saturación (C^*), tonalidad (H^*) no se ven afectados, por lo que no modifican el color. El tratamiento con microondas a 288 W puede ser una alternativa viable para maíz morado sin comprometer sus propiedades fisicoquímicas. Se recomienda realizar una evaluación microbiológica que permita corroborar la eficacia de los tratamientos con microondas en los principales microorganismos de interés postcosecha.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de los Apoyos Institucionales para Investigación de la Universidad de Guanajuato para D.S. Tapia Guerrero y M.G. Flores Sánchez. Este trabajo fue financiado por la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI, México), proyecto CBF2023-2024-1220.

Bibliografía

- Abdullahi, N., & Dandago, M. A. (2021). Postharvest losses in food grains – A review. *Turkish Journal of Food and Agriculture Sciences*, 3(2), 25–36. <https://doi.org/10.53663/turjfas.958473>
- Abrehame, S., Manoj, V. R., Hailu, M., Chen, Y. Y., Lin, Y.-C., Chen, C. Y., & Lin, C. S. (2023). Aflatoxins: source, detection, clinical features and prevention. *Processes*, 11(1), 204, 1–20. <https://doi.org/10.3390/pr11010204>
- Codex Alimentarius Commission. (1985). Standard for maize (corn) flour and maize (corn) meal (CXS 153-1985). Codex Alimentarius. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B153-1985%252FCXS_153s.pdf
- Flores-Sánchez, M. G., Pérez-Reyes, M. E., Kaur, T., & Sosa-Morales, M. E. (2026). Effect of water activity and microwave heating on the physicochemical properties of Mexican red chili peppers (*Capsicum annuum* L.): *De Árbol and Guajillo*. *Journal of Food Process Engineering*, 49, e70481. <https://doi.org/10.1111/jfpe.70481>
- García-Mosqueda, C., Salas-Araiza, M.D., Cerón-García, A., Estrada-García, H.J., Rojas-Laguna, R., & Sosa-Morales, M.E. (2019). Microwave heating as a post-harvest treatment for white corn (*Zea mays*) against *Sitotroga cerealella*. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 53(3), 145–154. <https://doi.org/10.1080/08327823.2019.1643651>

- González-Monroy, A. D., Rodríguez-Hernández, G., Ozuna, C., & Sosa-Morales, M. E. (2018). Microwave-assisted pasteurization of beverages (tamarind and green) and their quality during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 49, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.016>
- Lao, F., Sigurdson, G. T., & Giusti, M. M. (2017). Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 234–246. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12249>
- Lieberman, S. (2007). The antioxidant power of purple corn: A research review. *Alternative and Complementary Therapies*, 13(2), 107–110. <https://doi.org/10.1089/act.2007.13210>
- Martin, G. (2008). Factors That Affect Power and Uniformity of Heating in Microwave Ovens. In *Proceedings of 42nd Symposium of IMPI*. IMPI.
- Martínez Batista, E., Ramos Bell, S., Rayón Díaz, E., Díaz Cayetano, G., González Arias, C., Herrera González, J. A., Ireta Moreno, J., & Gutiérrez Martínez, P. (2025). Manejo postcosecha de fitopatógenos micotoxigénicos en maíz: Métodos convencionales y alternativas naturales. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 44(1), 1–19. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2503-2>
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Julanda Al-Said, F. (2013). Measuring and analysis of colour in fresh and processed foods: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
- Pérez-Reyes, M. E., Tang, J., Barbosa-Cánovas, G. V., & Zhu, M. (2021). Influence of water activity and dry-heating time on egg white powders quality. *LWT*, 140, 110717.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2016). Claridades agropecuarias: almacenamiento en México. *Claridades Agropecuarias*, 271, 1–50. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/185452/revista_271.pdf
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). Potencial nutracéutico de los maíces pigmentados. Gobierno de México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/232247/Potencial_nutraceutico_de_los_maices_pigmentados.pdf
- Tang, J. (2015). Unlocking potentials of microwaves for food safety and quality. *Journal of Food Science*, 80(8), E1776–E1793. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12959>
- Trueba-Vázquez, E., Fernández-Villanueva, G., Tapia-Cervantes, K. A., Salinas-Almanza, E. M., & Sosa-Morales, M. E. (2019). Tratamiento con microondas para control de plaga en *Zea mays* Everta y microbiológico en *Capsicum annuum*. *Jóvenes en la Ciencia*, 5(1), 1–4. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3060>
- Vadivambal, R., Jayas, D. S., & White, N. D. G. (2007). Wheat disinfestation using microwave energy. *Journal of Stored Products Research*, 43, 508–514.

Optimización de la extracción ultrasónica de grasa de semilla de mango y su efecto en la dureza del chocolate

Optimization of ultrasonic extraction of mango seed fat and its effect on chocolate hardness

Vaca Portillo A.C.¹, Osorio Mora O.², Cardoso Ugarte G.A³ y Gómez Salazar J.A.^{1*}

¹ Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca.

² Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño, Colombia

³ Facultad de Gastronomía, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla
julian.gomez@ugto.mx

RESUMEN:

La semilla de mango es un subproducto con alto potencial como fuente de lípidos alternativos a la manteca de cacao. En este contexto, el ultrasonido emerge como una tecnología eficiente. El objetivo de este estudio fue optimizar la extracción ultrasónica de grasa de semilla de mango y evaluar su efecto en la dureza del chocolate. La extracción se realizó evaluando la temperatura (25 - 55 °C), potencia (100 - 500 W) y relación sólido:solvente (1:10 - 1:30 p/v), mediante metodología de superficie de respuesta. La grasa obtenida se utilizó en la formulación de chocolate oscuro mediante la sustitución parcial de manteca de cacao al 5 % y 10 %, evaluando su efecto sobre la dureza. Los resultados de la optimización mostraron rendimientos 2.68 y 6.97% ($R^2 = 0.9511$), donde la relación sólido:solvente y la potencia influyen significativamente en la extracción y la validación arrojó un rendimiento de 6.12% en condiciones óptimas. Los resultados del chocolate mostraron que el nivel de sustitución de grasa influyó significativamente en la dureza ($p < 0.05$), el 10 % presentó una disminución respecto al control, mientras que el 5 % no evidenció diferencias significativas, lo cual se asocia con cambios en la estructura cristalina del sistema.

PALABRAS CLAVE: Valorización de subproductos, fenómeno de cavitación, metodología de superficie de respuesta, textura y estructura cristalina.

ABSTRACT:

Mango seed is a byproduct with high potential as a source of lipids alternative to cocoa butter. In this context, ultrasound emerges as an efficient technology. The objective of this study was to optimize the ultrasonic extraction of mango seed fat and evaluate its effect on chocolate hardness. Extraction was performed by evaluating temperature (25–55 °C), power (100–500 W), and solid-to-solvent ratio (1:10–1:30 w/v) using response surface methodology. The extracted fat was used in dark chocolate formulations by partially replacing cocoa butter at 5% and 10%, evaluating its effect on hardness. The optimization results showed yields of 2.68% and 6.97% ($R^2 = 0.9511$), where the solid-to-solvent ratio and power significantly influence the extraction. Validation yielded 6.12% under optimal conditions. The results for the chocolate showed that the level of fat substitution significantly influenced hardness ($p < 0.05$); 10% showed a decrease compared to the control, while 5% showed no significant differences, which is associated with changes in the crystalline structure of the system.

KEYWORDS: By-product valorization, cavitation phenomenon, response surface methodology, texture and crystalline structure.

INTRODUCCIÓN

La valorización de subproductos agroindustriales ha cobrado relevancia en la industria alimentaria como estrategia sostenible para el desarrollo de ingredientes funcionales. En la industria del chocolate, la alta dependencia de la manteca de cacao, junto con su elevado costo y variabilidad en el suministro, ha impulsado la búsqueda de alternativas lipídicas que mantengan las propiedades tecnológicas del producto. En este contexto, diversos aceites y grasas vegetales naturales, como la estearina de karité, la manteca de kokum, la manteca de illipe y el aceite de girasol, han demostrado presentar composiciones similares a la manteca de cacao, evidenciando su potencial como sustitutos de manteca de cacao (Norazlina et al., 2021).

En este contexto, la semilla de mango constituye un subproducto agroindustrial con potencial como fuente alternativa de lípidos. Se han reportado contenidos de grasa entre 3.7 y 13.7 % (Solís-Fuentes & Durán-de-Bazúa, 2020), y su amplia disponibilidad como residuo favorece su valorización desde una perspectiva de sostenibilidad y economía circular. Su fracción lipídica es rica en ácidos grasos saturados y monoinsaturados, constituyentes principalmente de triglicéridos tipo POS, SOS y POP, similares a los de la manteca de cacao, lo que favorece su compatibilidad en sistemas grasos estructurados (Jin et al., 2021). Estas características promueven la formación de redes cristalinas estables y a mantener propiedades tecnológicas como la dureza, la textura y la estabilidad del producto (Abbas et al., 2023; Jin et al., 2019; Mokbul et al., 2023).

La extracción de estos lípidos mediante tecnologías emergentes, como el ultrasonido, ha cobrado relevancia debido a su capacidad para mejorar la eficiencia del proceso a través de fenómenos de cavitación, los cuales favorecen la disrupción celular y la transferencia de masa. No obstante, la eficiencia de esta tecnología depende de variables operativas como la potencia ultrasónica, la relación sólido:solvente y la temperatura, las cuales determinan la intensidad de la cavitación, la transferencia de masa y la difusión de los lípidos, influyendo directamente en el rendimiento de extracción (Fu et al., 2020). Por ello, la aplicación de metodologías de optimización, como la metodología de superficie de respuesta, permite evaluar simultáneamente el efecto de varios factores y sus interacciones, generando modelos predictivos que facilitan la determinación de condiciones que maximizan el rendimiento del proceso (Thilakarathna et al., 2023; Yu et al., 2024).

La aplicación de la grasa de semilla de mango en chocolate representa una estrategia para evaluar su viabilidad como sustituto parcial de la manteca de cacao, considerando su efecto sobre los atributos que determinan la calidad del producto. Entre ellos, la dureza constituye uno de los parámetros tecnológicos más relevantes, ya que refleja la organización de la red cristalina de la fase grasa y está directamente relacionada con la sensación en boca y la aceptación del chocolate por parte del consumidor (Abbas et al., 2023). En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo optimizar la extracción ultrasónica de grasa de semilla de mango mediante metodología de superficie de respuesta y evaluar el efecto de su incorporación sobre la dureza del chocolate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la semilla de mango

Las semillas de mango procedentes de Las Palmas, San Blas, Nayarit (21°29'25" N 105°10'46" O) se lavaron, desinfectaron con agua clorada a 100 ppm y se deshidrataron en un horno de bandejas (Shel Lab CE3F), a 50 °C por 24 h. Posteriormente, se molieron (molino Restch- ZM1) y tamizaron (500 µm). Finalmente, el polvo obtenido se empacó en bolsas ziploc para su posterior análisis (Mieles-Gómez et al., 2023; Ouattara et al., 2022).

Extracción asistida con ultrasonido de grasa de semilla de mango

La extracción de la grasa se llevó a cabo mediante un sistema de ultrasonido de sonda (Biobase UCD 2000) con una punta de 15 mm de diámetro, frecuencia de 20 kHz y operación en modo pulsado. Se empleó hexano como solvente y se evaluaron diferentes relaciones sólido/solvente (1:10, 1:20 y 1:30, p/v), potencias ultrasónicas (100, 300 y 500 W) y temperaturas (25, 40 y 55 °C). El tiempo de extracción se fijó en 20 min, seleccionado previamente con base en una cinética de extracción. Posteriormente, se determinó el rendimiento (Ecuación 1) y se almacenó en viales ámbar en refrigeración para próximas pruebas (Dong & Sun, 2023; Mwaurah et al., 2021; Senrayan & Venkatachalam, 2020; Thilakarathna et al., 2023).

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{W_1 - W_o}{W_s} * 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde, W_1 : Peso del tubo cónico con la grasa extraída de semilla de mango (g), W_o : Peso del tubo cónico vacío (g) y W_s : Peso de la muestra (g)

Diseño experimental

Se optimizó la extracción de grasa de semilla de mango con un diseño Box-Behnken con metodología de superficie, con 3 factores (relación sólido: solvente, potencia y temperatura) y 3 niveles cada uno, para un total de 15 tratamientos. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden (Ecuación 2) mediante regresión y el análisis estadístico se realizó con el software Design-Expert 11 ®.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + e_i \quad \text{Ec. 2}$$

Donde Y : variable respuesta o dependiente; X_i : variables independientes; β_0 : intercepto; β_i , β_{ij} , β_{ii} : coeficientes de regresión para términos lineales, cuadráticos e interacciones; k : número de variables.

Desarrollo de formulaciones de chocolate

Los chocolates fueron elaborados en la Facultad de Gastronomía de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla (UPAEP), siguiendo las metodologías de Rajabi y Sedaghati (2024) y Greweling (2012) con modificaciones. Se realizaron tres formulaciones, estas incluyeron 60 % de cacao, 24 % de azúcar, 1 % de lecitina y 15 % de fase grasa; T0: control, 100 % manteca de cacao, T1 y T2: sustitución del 5 y 10 % con grasa de semilla de mango respectivamente. Los ingredientes se refinaron durante 2.5 h, seguido de un proceso de templado (50, 27 y 32 °C). Finalmente, los chocolates se moldearon y desmoldaron tras 30 min, y se almacenaron hasta su análisis.

Determinación de Dureza de Chocolate

Se determinó con un analizador de textura (LOYD LS1SH) con 5 repeticiones para cada tratamiento, mediante una sonda cilíndrica (diámetro de 5 mm) a una velocidad de 1 mm s⁻¹. Las dimensiones de las muestras fueron de 50 mm×25 mm×10 mm, tomando mediciones por triplicado (Razavizadeh & Tabrizi, 2021).

Análisis estadístico

Los datos de dureza obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la dureza del chocolate. Se aplicó una prueba de comparación de medias de Tukey para identificar diferencias entre tratamientos. ($p < 0.05$) Los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de la extracción de grasa de semilla de mango

La optimización de grasa de semilla de mango se llevó a cabo con la metodología de superficie de respuesta donde los rendimientos variaron desde 2.68 hasta 6.97 % (Tabla I). Los rendimientos obtenidos concuerdan con los reportados en la literatura (3.7–16.1 %), los cuales varían según la variedad de mango y el método de extracción. Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa (2020) y Jin et al. (2016) reportaron valores entre 3.7 y 13.7 % y 5.64–11.14 %, respectivamente, mientras que Ohale et al. (2022) obtuvieron hasta 16.1 % mediante Soxhlet. Estas diferencias evidencian la influencia tanto de la variedad como de la técnica empleada, siendo Soxhlet un método más prolongado (≥ 6 h) en comparación con la extracción asistida por ultrasonido utilizada en este estudio (20 min).

Tabla I. Diseño y resultados de la metodología de superficie de respuesta (MSR) para la extracción de grasa de semilla de mango.

Corrida	Factores			Rendimiento (%)
	X ₁ : Relación sólido: solvente	X ₂ : Potencia (W)	X ₃ : Temperatura (°C)	
1	20	300	40	4.42
2	30	100	40	5.14
3	20	500	25	4.09
4	20	500	55	4.98
5	20	100	55	3.10
6	10	300	55	4.89
7	30	300	25	5.82
8	30	300	55	5.39
9	20	300	40	4.57
10	20	300	40	4.31
11	10	100	40	2.68
12	20	100	25	3.57
13	10	500	40	5.32
14	30	500	40	6.97
15	10	300	25	3.61

El análisis de varianza presentado en la Tabla II indicó que el modelo de superficie de respuesta fue significativo ($p = 0.0087$), evidenciando un buen ajuste para describir la extracción. La relación sólido:solvente y la potencia de ultrasonido presentaron efectos significativos ($p < 0.05$), mientras que la temperatura y las interacciones de los factores no fueron relevantes. El término cuadrático de la relación (A^2) resultó significativo ($p = 0.0136$), indicando curvatura en la respuesta. Además, la falta de ajuste no fue significativa ($p = 0.0610$), confirmando la validez del modelo para predecir condiciones óptimas.

Tabla II. Análisis de varianza (ANOVA) de la extracción de grasa de semilla de mango.

Fuente	Suma de cuadrados	g.l	Cuadrado medio	Valor F	Valor-p	
Modelo	16.31	9	1.81	10.81	0.0087	Significativo
A: Relación sólido:solvente	5.83	1	5.83	34.79	0.0020	
B: Potencia	5.90	1	5.90	35.19	0.0019	
C: Temperatura	0.2027	1	0.2027	1.21	0.3216	
AB	0.1601	1	0.1601	0.9546	0.3734	
AC	0.7240	1	0.7240	4.32	0.0923	
BC	0.4637	1	0.4637	2.77	0.1572	
A ²	2.33	1	2.33	13.89	0.0136	
B ²	0.1458	1	0.1458	0.8697	0.3938	
C ²	0.3368	1	0.3368	2.01	0.2156	
Residuo	0.8383	5	0.1677			
Falta de ajuste	0.8039	3	0.2680	15.57	0.0610	No significativo
Error puro	0.0344	2	0.0172			

Total	17.15	14
--------------	-------	----

Según los resultados del ANOVA, se construyó el gráfico de superficie de respuesta (Figura 1) respecto a la relación sólido: solvente y la potencia como factores con efecto significativo en la maximización del rendimiento. A medida que la relación sólido: solvente y la potencia incrementan, el rendimiento asciende de forma notable, considerando temperaturas medias. Los puntos marcados evidencian que las condiciones extremas dentro del rango estudiado permiten alcanzar los valores más altos de extracción.

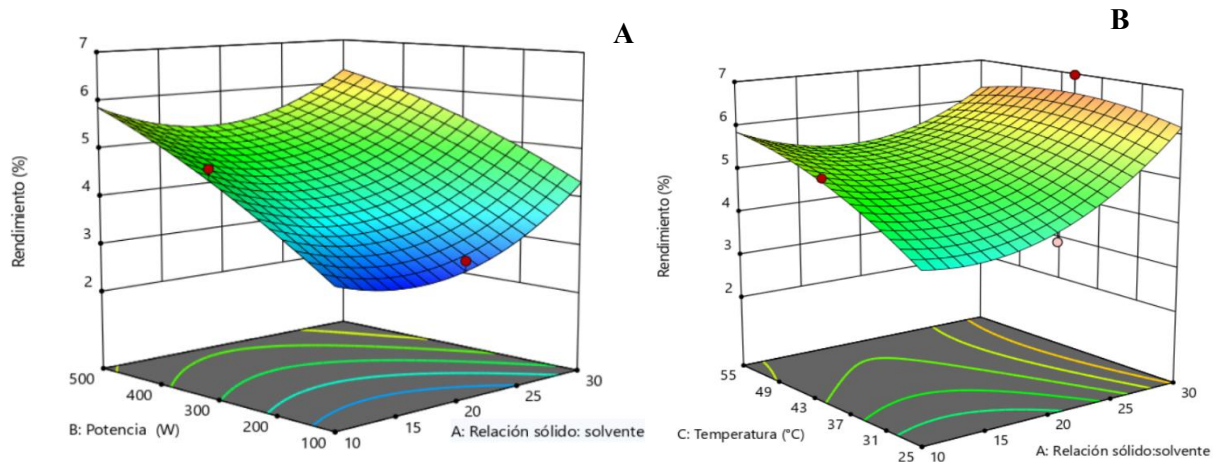


Figura 1. Diagrama de superficie de respuesta de la extracción de grasa de semilla de mango. A: Interacción relación sólido: solvente y potencia; B: Interacción relación sólido: solvente y temperatura

La Ecuación 3 representa la posibilidad para predecir el comportamiento del proceso así:

$$\text{Rendimiento (\%)} = 0.0875456 + (-0.0888478 * A) + (0.00473567 * B) + (0.00794234 * A^2) \quad \text{Ec. 3}$$

La validación del modelo confirmó su solidez y capacidad predictiva dentro del proceso de extracción. El coeficiente de determinación ($R^2 = 0.9511$) evidenció un ajuste entre los valores predichos y los observados, mientras que el error fue menor a 10 %, lo que refleja la precisión experimental. La optimización identificó como condiciones ideales las que se muestran en la Tabla III.

Tabla III. Optimización y validación de la extracción de grasa de semilla de mango.

Factores		Condiciones óptimas		Deseabilidad
Relación sólido:solvente		1:30		0.900
Potencia (W)		499.999		
Temperatura (°C)		41.837		
Variable	Valor teórico	Valor experimental	Error (%)	
Rendimiento (%)	6.546	6.12	6.5	

En cuanto al efecto de los factores, la relación sólido: solvente, la potencia y el efecto cuadrático de la relación sólido: solvente influyen significativamente en los rendimientos de extracción. Respectivamente, Ohale et al. (2022) atribuyen que la rápida extracción de grasa de semilla de mango se debe a que al aumentar la relación sólido: solvente incrementa la cantidad de aceite lixiviable durante el proceso de extracción. Por su parte Wei et al. (2022) reporta que la potencia ultrasónica controla la intensidad de la cavitación durante el proceso de extracción. A medida que aumenta, se incrementa la formación e implosión de microburbujas, generando fuerzas mecánicas que favorecen la ruptura de la matriz celular y mejoran la liberación de los lípidos. Por el contrario, niveles bajos de potencia pueden producir una cavitación insuficiente y disminuir el rendimiento de extracción.

Dureza del chocolate producido

La dureza es una de las propiedades texturales más relevantes en el chocolate, ya que está directamente relacionada con la percepción sensorial, la calidad del producto y su comportamiento durante el manejo y almacenamiento (Abbas et al., 2023). El análisis de varianza (Tabla IV) evidenció que el nivel de sustitución de manteca de cacao tuvo un efecto significativo sobre la dureza del chocolate ($p = 0.0006$), indicando que las diferencias observadas entre tratamientos no son atribuibles al azar. Este resultado confirma que la incorporación de grasa de semilla de mango modifica las propiedades mecánicas del sistema, lo cual puede estar relacionado con cambios en la composición lipídica, la fracción sólida de grasa y la organización de la red cristalina. Se ha reportado que la dureza del chocolate depende en gran medida de la estructura cristalina y de la proporción de triglicéridos tipo SOS, los cuales favorecen la formación de una red sólida estable (Abbas et al., 2023; Kaur et al., 2022; Mokbul et al., 2023; Zarić et al., 2024).

Tabla IV. Análisis de varianza (ANOVA) de chocolate con sustitución de grasa de semilla de mango.

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l	Cuadrado Medio	Valor F	Valor-p
Dureza	1289.68	2	644.838	14.49	0.0006
Error	533.986	12	44.988		
Total	1823.66	14			

Para identificar específicamente las diferencias entre tratamientos, se realizó una prueba de comparación múltiple de medias (Tukey, 95 %), como se muestra en la Figura 2.

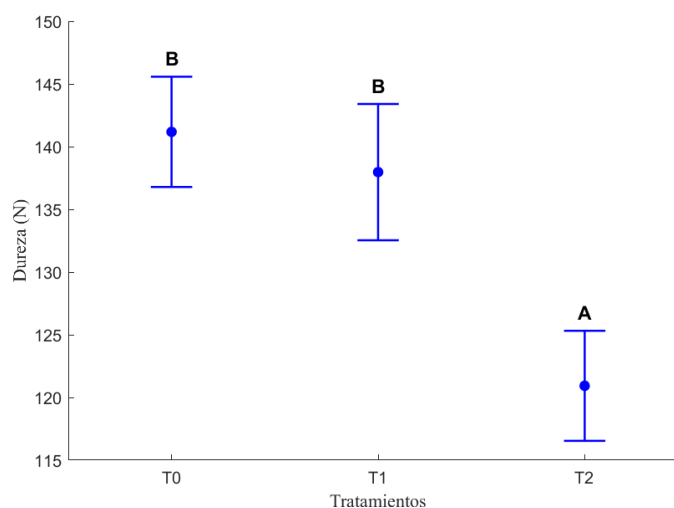


Figura 2. Comparación múltiple de medias (Tukey 95 %) de la dureza del chocolate en función del nivel de sustitución de grasa de semilla de mango; T0: 0 %, T1: 5 %, T2: 10 %.

Como se puede observar, T0 y T1 no presentaron diferencias significativas entre sí, mientras que T2 se ubicó en un grupo estadísticamente distinto, con una disminución significativa en la dureza. Este comportamiento sugiere que, a niveles bajos de sustitución (5 %), la grasa de semilla de mango es compatible con la matriz lipídica del chocolate, permitiendo mantener una red cristalina adecuada. Sin embargo, al incrementar la sustitución, se observa una reducción en la resistencia mecánica, posiblemente asociada a una disrupción en el empaquetamiento cristalino y a variaciones en la estabilidad de formas polimórficas como la $\beta(V)$, considerada responsable de las propiedades óptimas del chocolate. Este fenómeno ha sido descrito en sistemas también con uso de grasa de semilla de mango, donde niveles elevados de sustitución afectan la continuidad de la red cristalina y disminuyen la dureza del producto.

(Kaur et al., 2022; Mokbul et al., 2023). De manera similar, Thilakarathna et al. (2025) encontraron que chocolates elaborados con mayores porcentajes de grasa de mahua presentaron una menor dureza, atribuida a una reducción en la fracción de cristales de grasa sólida. En conjunto, estos resultados evidencian la existencia de un umbral de sustitución a partir del cual la estructura del chocolate comienza a verse comprometida.

CONCLUSIONES

La extracción ultrasónica de grasa de semilla de mango está principalmente controlada por la relación sólido:solvente y la potencia, las cuales favorecen la transferencia de masa mediante la cavitación, mientras que la temperatura presenta un efecto limitado dentro del rango evaluado. La metodología de superficie de respuesta demostró ser una herramienta eficaz para modelar y optimizar el proceso, logrando predecir condiciones óptimas con alta precisión y validación experimental, lo que confirma su aplicabilidad en la intensificación de procesos de extracción asistidos por ultrasonido.

La sustitución de manteca de cacao por grasa de semilla de mango en la formulación de chocolate evidenció que el nivel de sustitución afecta la dureza del producto, donde el 5 % no presentó diferencias significativas respecto al control, mientras que el 10 % generó una disminución en esta propiedad. Estos resultados indican que la grasa de semilla de mango puede incorporarse en chocolate a niveles moderados sin comprometer su integridad estructural.

En conjunto, el estudio demuestra el potencial de la extracción asistida por ultrasonido como una alternativa eficiente para la valorización de subproductos y el desarrollo de ingredientes lipídicos con aplicación en sistemas alimentarios.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, S., Shahbaz, M., Ahmad, S., Imran, M., Naeem, H., Hussain, M., Mujtaba, A., Mubeen, K., Afzal, M. I., Akram, Q., Mushtaq, Z., Abdelgawad, M. A., Ghoneim, M. M., Shaker, M. E., & AL JBawi, E. (2023). Utilization of mango seed oil as a cocoa butter replacer for the development of innovative chocolate. *International Journal of Food Properties*, 26(2), 3226–3240. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2267784>
- Dong, S., & Sun, S. (2023). Kinetic and thermodynamic studies of the oil extracted from Phoenix seeds. *Grasas y Aceites*, 74(2). <https://doi.org/10.3989/gya.0669221>
- Fu, X., Belwal, T., Cravotto, G., & Luo, Z. (2020). Sono-physical and sono-chemical effects of ultrasound: Primary applications in extraction and freezing operations and influence on food components. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104726. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2019.104726>
- Jin, J., Jin, Q., Akoh, C. C., & Wang, X. (2021). StOst-rich fats in the manufacture of heat-stable chocolates and their potential impacts on fat bloom behaviors. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 418–430. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.005>
- Jin, J., Jin, Q., Wang, X., & Akoh, C. C. (2019). Improving heat and fat bloom stabilities of “dark chocolates” by addition of mango kernel fat-based chocolate fats. *Journal of Food Engineering*, 246, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.10.027>
- Jin, J., Warda, P., Mu, H., Zhang, Y., Jie, L., Mao, J., Xie, D., Huang, J., Jin, Q., & Wang, X. (2016). Characteristics of mango kernel fats extracted from 11 China-specific varieties and their typically fractionated fractions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(8), 1115–1125. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2853-2>
- Kaur, G., Kaur, D., Kansal, S. K., Garg, M., & Krishania, M. (2022). Potential cocoa butter substitute derived from mango seed kernel. *Food Chemistry*, 372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131244>

- Mieles-Gómez, L., Quintana, S. E., & García-Zapateiro, L. A. (2023). Ultrasound-Assisted Extraction of Mango (*Mangifera indica*) Kernel Starch: Chemical, Techno-Functional, and Pasting Properties. *Gels*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/gels9020136>
- Mokbul, M., Cheow, Y. L., & Siow, L. F. (2023). Physical properties, sensory profile and storage stability of compound chocolates made with cocoa butter replacer consisting of mango kernel fat and rice bran oil. *Food Chemistry Advances*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100515>
- Mwaurah, P. W., Kumar, S., Kumar, N., Attkan, A. K., Panghal, A., & Singh, V. K. (2021). Ultrasound and microwave-assisted solvent extraction of mango kernel oil and evaluation of physicochemical properties and fatty acid profile. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12). <https://doi.org/10.1111/jfpp.16090>
- Norazlina, M. R., Jahurul, M. H. A., Hasmadi, M., Mansoor, A. H., Norliza, J., Patricia, M., Ramlah George, M. R., Noorakmar, A. W., Lee, J. S., & Fan, H. Y. (2021). Trends in blending vegetable fats and oils for cocoa butter alternative application: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 102–114. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.07.016>
- Ohale, P. E., Nwajiobi, O. J., Onu, C. E., Madiebo, E. M., & Ohale, N. J. (2022). Solvent extraction of oil from three cultivars of Nigerian mango seed kernel: Process modeling, GA-optimization, nonlinear kinetics and comparative characterization. *Applied Food Research*, 2(2), 100227. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100227>
- Ouattara, L. Y., Soro, D., Fanou, G. D., Kouassi, E. K. A., Bamba, M., Yao, K. B., Adouby, K., Drogui, A. P., & Tyagi, D. R. (2022). Optimization of the Autoclave-Assisted Alkaline Delignification of Cocoa (*Theobroma cacao*) Pod Husks Using KOH to Maximize Reducing Sugars. *BioResources*, 17(1), 826–848. <https://doi.org/10.15376/BIORES.17.1.826-848>
- Razavizadeh, B. M., & Tabrizi, P. (2021). Characterization of fortified compound milk chocolate with microcapsulated chia seed oil. *LWT*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111993>
- Senrayan, J., & Venkatachalam, S. (2020). Ultrasonic acoustic-cavitation as a novel and emerging energy efficient technique for oil extraction from kapok seeds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 62. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102347>
- Solís-Fuentes, J. A., & Durán-de-Bazúa, M. del C. (2020). Mango Seed. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* (pp. 79–90). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818553-7.00008-5>
- Thilakarathna, R. C. N., Siow, L. F., Tang, T. K., Chan, E. S., & Lee, Y. Y. (2023). Physicochemical and antioxidative properties of ultrasound-assisted extraction of mahua (*Madhuca longifolia*) seed oil in comparison with conventional Soxhlet and mechanical extractions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106280>
- Thilakarathna, R. C. N., Siow, L. F., Tang, T. K., Cheong, L. Z., & Lee, Y. Y. (2025). Mahua oil fraction: A sustainable and functional 1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol (POS)-enriched cocoa butter equivalent for chocolate production. *Food Chemistry*, 477, Article 143564. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143564>
- Wei, C., Xiao, K., Li, H., Qi, Y., Zou, Z., & Liu, Z. (2022). Optimization of ultrasound assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Cinnamomum camphora* seeds. *LWT*, 164, 113689. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113689>
- Yu, X., Li, S., Peng, S., Tao, L., & Hu, F. (2024). Optimization of ultrasound-assisted extraction of fatty acids from royal jelly and its effect on the structural and antioxidant property. *Ultrasonics Sonochemistry*, 104, 106802. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2024.106802>

Zarić, D. B., Rakin, M. B., Bulatović, M. Lj., Dimitrijević, I. D., Ostojin, V. D., Lončarević, I. S., & Stožinić, M. V. (2024). Rheological, Thermal, and Textural Characteristics of White, Milk, Dark, and Ruby Chocolate. *Processes*, 12(12), 2810. <https://doi.org/10.3390/pr12122810>

Valorización de Garambullo en Síntesis Verde de Nanopartículas de Plata: Efecto de la Complejidad Fitoquímica y Capacidad Antioxidante Frente a Quercetina

Valorization of Garambullo in Green Synthesis of Silver Nanoparticles: Phytochemical Complexity Effect and Antioxidant Capacity Against Quercetin

López-Cortés M. G.^{1*}, Pérez-Pérez M. C. I.¹, González-Calderón J. A.², Teniente-Martínez G.³, Herrera-Pérez S.¹, Almanza-Rangel, S.¹

¹ Departamento de Ingeniería Bioquímica y Ambiental; Tecnológico Nacional de México en Celaya; 38010, Celaya, Guanajuato

² Cátedras CONACYT-Instituto de Física; Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 78000, San Luis Potosí, San Luis Potosí

³ Departamento de Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología y Licenciatura en Ingeniería en Alimentos; Universidad Politécnica de Guanajuato; 38496, Cortázar, Guanajuato

d2403004@itcelaya.edu.mx

ABSTRACT

The potential of garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) as a reducing and stabilizing agent in the green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) was evaluated in comparison with commercial and reagent-grade quercetin. The extract exhibited a phenolic compound content of 60.893 mg GAE/100 g, higher than in previous reports, as reflected in high antioxidant capacities (1559.11 μ M TE/100 g by ABTS and 1016.50 μ M TE/100 g by DPPH). AgNPs formation was confirmed by UV-Vis spectroscopy, revealing a characteristic plasmon around 430 nm, as well as a color change indicative of Ag⁺ reduction. Systems with garambullo showed greater colloidal stability over time, while systems with quercetin showed a greater tendency to agglomerate. In the antimicrobial evaluation, AgNPs synthesized from garambullo showed greater activity against *Staphylococcus aureus*, with inhibition zones up to 26.23 $\pm$ 0.25 mm, while inhibition against *Escherichia coli* was lower (14.49 $\pm$ 0.45 mm), attributed to its cellular structure. These results demonstrate that the phytochemical complexity of garambullo favors both the synthesis and stability of AgNPs, highlighting its potential as a sustainable alternative for applications in the food sector.

Keywords: Antimicrobial activity, antioxidant capacity, green synthesis, garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), silver nanoparticles.

RESUMEN

Se evaluó el potencial del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) como agente reductor y estabilizante en la síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs), en comparación con quercetina comercial y de grado reactivo. El extracto presentó un contenido de compuestos fenólicos de 60.893 mg GAE/100 g, superior a reportes previos, lo que se reflejó en una elevada capacidad antioxidante (1559.11 μ M TE/100 g por ABTS y 1016.50 μ M TE/100 g por DPPH). La formación de AgNPs se confirmó mediante espectroscopía UV-Vis, observándose un plasmón característico alrededor de 430 nm, así como un cambio de color indicativo de la reducción de Ag⁺. Los sistemas con garambullo mostraron mayor estabilidad coloidal en el tiempo, mientras que los sistemas con quercetina, evidenciaron mayor tendencia a la aglomeración. En la evaluación antimicrobiana, las AgNPs sintetizadas con garambullo presentaron mayor actividad frente a *Staphylococcus aureus* ATCC-6538, con halos de inhibición de hasta 26.23 $\pm$ 0.25 mm, mientras que en *Escherichia coli* ATCC-25922 la inhibición fue menor, 14.49 $\pm$ 0.45 mm, atribuida a su estructura celular. Estos resultados evidencian que la complejidad fitoquímica del garambullo favorece tanto la síntesis como la estabilidad de las AgNPs, lo que destaca su potencial como alternativa sustentable para aplicaciones en el sector alimentario.

Palabras Clave: Actividad antimicrobiana, capacidad antioxidante, garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), nanopartículas de plata, síntesis verde.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de plata (AgNPs) han sido ampliamente estudiadas debido a sus propiedades fisicoquímicas y biológicas distintivas, asociadas a su tamaño nanométrico (1–100 nm), alta relación superficie-volumen y capacidad de liberar iones Ag^+ , lo que les confiere una notable actividad antimicrobiana y aplicaciones potenciales en sectores biomédicos, alimentarios y ambientales (Parmar *et al.*, 2022; Shahzadi *et al.*, 2025). Tradicionalmente, la síntesis de AgNPs se ha llevado a cabo mediante métodos físico-químicos que, si bien permiten un control adecuado del tamaño y morfología, presentan desventajas asociadas al alto consumo energético y al uso de reactivos potencialmente tóxicos.

En este contexto, la síntesis verde ha emergido como una alternativa sustentable basada en el uso de extractos biológicos ricos en metabolitos secundarios capaces de actuar como agentes reductores y estabilizantes (Huq *et al.*, 2022 y Abada *et al.*, 2024). Entre estos compuestos, los polifenoles, flavonoides y otros antioxidantes desempeñan un papel clave en la reducción de iones metálicos y en la estabilización coloidal de las nanopartículas formadas. La eficiencia de este proceso está estrechamente relacionada con la capacidad antioxidante del sistema, la cual depende no solo de la concentración de compuestos bioactivos, sino también de la complejidad fitoquímica de la matriz vegetal utilizada (Ibrahim *et al.*, 2024 y Arshad *et al.*, 2024).

La complejidad fitoquímica hace referencia a la diversidad y posible interacción sinérgica entre múltiples metabolitos presentes en una matriz natural, lo que puede influir significativamente en los mecanismos de nucleación, crecimiento y estabilización de las nanopartículas. A diferencia de sistemas simplificados basados en compuestos puros, como la quercetina (un flavonoide ampliamente utilizado como modelo por su alta capacidad reductora), los extractos vegetales complejos pueden generar efectos cooperativos que modulan tanto la cinética de síntesis como las propiedades fisicoquímicas finales de las AgNPs (Ramírez-Rosas *et al.*, 2022 y Sharma *et al.*, 2023).

En este sentido, el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) representa una fuente subutilizada de compuestos bioactivos con alto potencial antioxidante, incluyendo betalainas, flavonoides y ácidos fenólicos, los cuales pueden actuar como agentes reductores y estabilizantes en procesos de síntesis verde. No obstante, el efecto de la complejidad fitoquímica de matrices vegetales frente a compuestos modelo puros en la formación de AgNPs aún no ha sido completamente esclarecido, particularmente en términos de su impacto en la eficiencia de reducción y estabilidad coloidal. Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la valorización del garambullo en la síntesis verde de nanopartículas de plata, analizando el efecto de su complejidad fitoquímica y su capacidad antioxidante en comparación con la quercetina como compuesto modelo.

Este enfoque contribuye a comprender los mecanismos involucrados en la biosíntesis de nanomateriales y promueve el aprovechamiento de biomasa regional en estrategias de economía circular orientadas al desarrollo de materiales funcionales de alto valor agregado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*)

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) fue recolectado en Garabatillo, Dolores Hidalgo, Guanajuato, México (21°18'47" N, 100°44'47" W). Se seleccionaron frutos maduros, que fueron lavados, desinfectados con solución de plata ionizada al 30% v/v y secados al aire. Posteriormente, las muestras se almacenaron en bolsas herméticas y se conservaron a -20 °C hasta su uso.

Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante

El contenido de compuestos fenólicos totales del garambullo se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Los compuestos fueron extraídos con etanol al 50% v/v y reaccionaron con el reactivo de Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio. La absorbancia se midió a 765 nm y se utilizó una curva patrón de ácido gálico para cuantificar los resultados, expresados como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de muestra.

La actividad antioxidante se determinó mediante el método DPPH. Se mezclaron 0.1 mL del extracto con 2.9 mL de DPPH 0.1 mM y se midió la absorbancia a 517 nm. La actividad se expresó como porcentaje de inhibición respecto al control, utilizando una curva de calibración con concentraciones conocidas de DPPH (Gülcin, 2012).

La actividad antioxidante se determinó mediante el método ABTS, basado en la reducción del radical ABTS•+. Este se generó a partir de ABTS y persulfato de potasio, incubados en oscuridad durante 16 h. El extracto reaccionó con la solución de ABTS•+ y la absorbancia se midió a 734 nm. Los resultados se expresaron como equivalentes de Trolox (TE) mediante una curva de calibración.

Preparación de sistemas de nanopartículas de plata (AgNPs)

Se evaluaron cinco condiciones para la síntesis de nanopartículas de plata, incluyendo dos controles con quercetina (grado reactivo y comercial) y tres sistemas con extracto de garambullo a distintas concentraciones y pH (Tabla 1). Se preparó una solución de AgNO₃ (2 mM) y, por separado, soluciones de cada muestra en una mezcla hidroalcohólica. El pH inicial se ajustó con NaOH según el sistema. Posteriormente, se añadieron 2.5 mL de cada muestra a la solución de AgNO₃ bajo agitación constante (400 rpm) durante 2 h, seguido de un reposo de 24 h para favorecer la formación de las nanopartículas. El proceso se realizó a temperatura ambiente y en ausencia de luz (Ramírez-Rosas *et al.*, 2022).

Tabla 1. Condiciones de síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) obtenidas a partir de extractos etanólicos de *Myrtillocactus geometrizans*.

Tipo de extracto	Muestra (g)	pH de síntesis	Volumen de AgNO ₃ al 2mM (mL)	Etiqueta
Quercetina Grado Reactivo	0.003	7	25	QGR
Quercetina Grado Comercial	0.012	7	25	QGC
Garambullo completo	1.0	7	25	G 1-25 pH 7
Garambullo completo	2.0	7	25	G 2-25 pH 7
Garambullo completo	1.0	8	25	G 1-25 pH 8

Evaluación visual y UV/Vis

La formación y estabilidad de las nanopartículas de plata se evaluaron mediante espectroscopía UV-Vis en un equipo Thermo Scientific Genesys 10S (250–500 nm). La aparición de un cambio de color de transparente a dorado se consideró un indicativo de la formación de AgNPs, asociado a la reducción del nitrato de plata a AgNPs (Grigoras y Grigoras, 2024).

Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las AgNPs se evaluó mediante la técnica de difusión por disco frente a *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) y *Escherichia coli* (Gram negativa). Las cepas se inocularon en agar y se colocaron discos impregnados con los sistemas evaluados (10 µL), incluyendo controles positivo (azitromicina) y negativo (caldo LB). Las placas se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 h y los halos de inhibición se midieron hasta 72 h. Todos los ensayos se realizaron por triplicado (Rizwana *et al.*, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante por los métodos (DPPH, ABTS)

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos, los resultados obtenidos muestran que el extracto de garambullo presentó un contenido de 60.893 ± 0.127 mg GAE/100 g, un valor superior al reportado previamente por López-Cortés *et al.*, 2025, para *Myrtillocactus geometrizans* (40.063 ± 0.280 mg GAE/100 g) y considerablemente mayor respecto a otro tipo de extracto como el acuoso (20.991 ± 0.140 mg GAE/100 g). Estas diferencias pueden atribuirse principalmente al tipo de solvente utilizado en la extracción, donde sistemas hidroetanólicos favorecen la solubilización de compuestos fenólicos frente a sistemas acuosos. Además, las condiciones de extracción (tiempo, temperatura, relación sólido-líquido). Adicionalmente, la variabilidad biológica del fruto incluye madurez, origen geográfico y condiciones de cultivo. Estos resultados sugieren que el extracto de garambullo presenta una mayor concentración de metabolitos reductores, lo cual es relevante para procesos de síntesis verde, ya que los compuestos fenólicos actúan como donadores de electrones en la reducción de Ag^+ a Ag^0 .

En cuanto a la capacidad antioxidante de 1559.11 ± 0.096 µM TE/100 g representa un valor inferior al reportado por López-Palestina *et al.* (2018) (2735 ± 15.230 µM TE/100 g), sin embargo, superior a frutos como zarzamora (1357.29 ± 20.760 µM TE/100 g) y mora azul (1253.9 ± 87.55 µM TE/100 g).

Adicionalmente, en otro sistema experimental por el método de DPPH se obtuvo un valor de 1016.50 ± 0.680 µM TE/100 g, ligeramente superior al reportado en la literatura (Sánchez-Recillas *et al.*, 2022) (907.9 ± 30.9 µM TE/100 g). Estas diferencias pueden deberse a la metodología empleada, ya que con DPPH se basa principalmente en la transferencia de hidrógeno y presenta afinidad por compuestos lipofílicos, lo que puede limitar su capacidad para detectar antioxidantes altamente polares presentes en matrices complejas como el garambullo. En contraste, el método ABTS, al ser soluble en medios tanto acuosos como orgánicos y operar mediante mecanismos de transferencia de electrones y de hidrógeno, permite evaluar una gama más amplia de compuestos antioxidantes. En consecuencia, ABTS tiende a reportar valores más altos y representativos de la capacidad antioxidante total, mientras que DPPH puede subestimar dicha capacidad dependiendo de la naturaleza de los compuestos presentes.

Sin embargo, estos resultados evidencian una tendencia positiva entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante, lo cual es consistente con el papel de los compuestos fenólicos como agentes donadores de electrones e hidrógeno. Estos hallazgos respaldan el potencial del garambullo como un recurso natural de alto valor agregado, ya que presenta propiedades comparables o superiores a frutos ampliamente estudiados, y puede ser aprovechado como materia prima en procesos de síntesis verde. Además, esto permite integrar estrategias de valorización de biomasa dentro de un modelo de economía circular.

Confirmación visual y UV-Vis

Una vez obtenidas las AgNPs, la producción por biosíntesis se confirmó visualmente por su color coloidal marrón, visible a simple vista. Durante la síntesis verde de nanopartículas de plata en los diferentes sistemas, se observó un cambio de color de amarillo pálido a amarillo dorado y finalmente a amarillo marrón, como se muestra en la Figura 1. Este cambio de color confirma visualmente la formación de nanopartículas después de 24 horas de síntesis. En los sistemas sintetizados con quercetina se puede observar una transición más dirigida hacia las tonalidades rojizas y marrón oscuro. Este comportamiento coincide con lo reportado con quercetina, considerada un agente reductor

altamente eficiente. Además, se encontró que la producción de AgNPs depende de la concentración de la solución de quercetina añadida y del pH, como fue confirmado por los espectros UV-Vis (Badi'Ah *et al.*, 2019).

La Figura 1 muestra los gráficos correspondientes al monitoreo de la estabilidad del plasmón característico de las AgNPs en un rango de aproximadamente 400-450 nm durante un periodo de 12 días, mediante el registro de los espectros UV-Vis de los cinco sistemas descritos en la Tabla 1. En los sistemas con extracto de garambullo (Figuras 1a, 1b y 1c), se observó una tendencia hacia la aglomeración de las nanopartículas, evidenciada por un ensanchamiento del pico, lo cual indica una distribución de tamaño más amplia. Sin embargo, el sistema con doble concentración de extracto de garambullo (Figura 1b) presentó un mayor tamaño promedio de partícula, reflejado en un mayor ancho de pico en comparación con los otros dos sistemas de garambullo. En cuanto al pH (Figuras 1a y 1c), no se observaron diferencias significativas en la formación del plasmón, aunque se detectó una velocidad más lenta de formación de partículas a pH 8 durante los primeros días.

En los sistemas con quercetina grado reactivo y grado comercial (Figuras 1d y 1e), se observó un hombro entre 340 y 350 nm, indicando la presencia de quercetina no reducida. Sin embargo, según la literatura, el plasmón característico de las AgNPs se encuentra típicamente en el rango de 400 a 450 nm (Jain y Mehata, 2017). Los espectros registrados a lo largo del tiempo confirmaron la estabilidad a largo plazo y la retención de esta señal en todos los sistemas, con un pico en 430 nm en UV-Vis.

Además, los sistemas con extracto de garambullo (Figuras 1a, 1b y 1c) mostraron mayor estabilidad y una señal espectral más definida en comparación con los sistemas con quercetina comercial o de grado reactivo. Esto sugiere que, aunque es factible sintetizar AgNPs utilizando quercetina pura aislada a pH 7, las nanopartículas obtenidas pueden presentar un desempeño inferior en aplicaciones antimicrobianas en comparación con aquellas sintetizadas con garambullo.

En comparación con otros estudios en los que se realizó la síntesis de AgNPs usando extracto de *Lawsonia inermis* (henna), se observó un máximo de absorción en 460 nm (Singh *et al.*, 2024), correspondiente a la región visible del espectro. Este valor es ligeramente diferente al obtenido con los extractos de garambullo. Por otro lado, las AgNPs sintetizadas con extracto de *Thymus vulgaris* mostraron un comportamiento óptico característico de las nanopartículas de plata, con un máximo de absorción en el rango de 400 a 500 nm, con una concentración cercana a los 400 nm (Pacheco *et al.*, 2023).

Los sistemas obtenidos con extracto de garambullo no solo lograron reducir eficientemente los iones de plata, sino que también actuaron como agentes estabilizantes, promoviendo una morfología uniforme y una mayor estabilidad de las partículas en comparación con sistemas sintetizados con otros extractos. Esto resalta las propiedades únicas del extracto de garambullo en la síntesis y estabilización de nanopartículas de plata (AgNPs), lo que lo posiciona como un agente eficaz en la síntesis verde de nanopartículas.

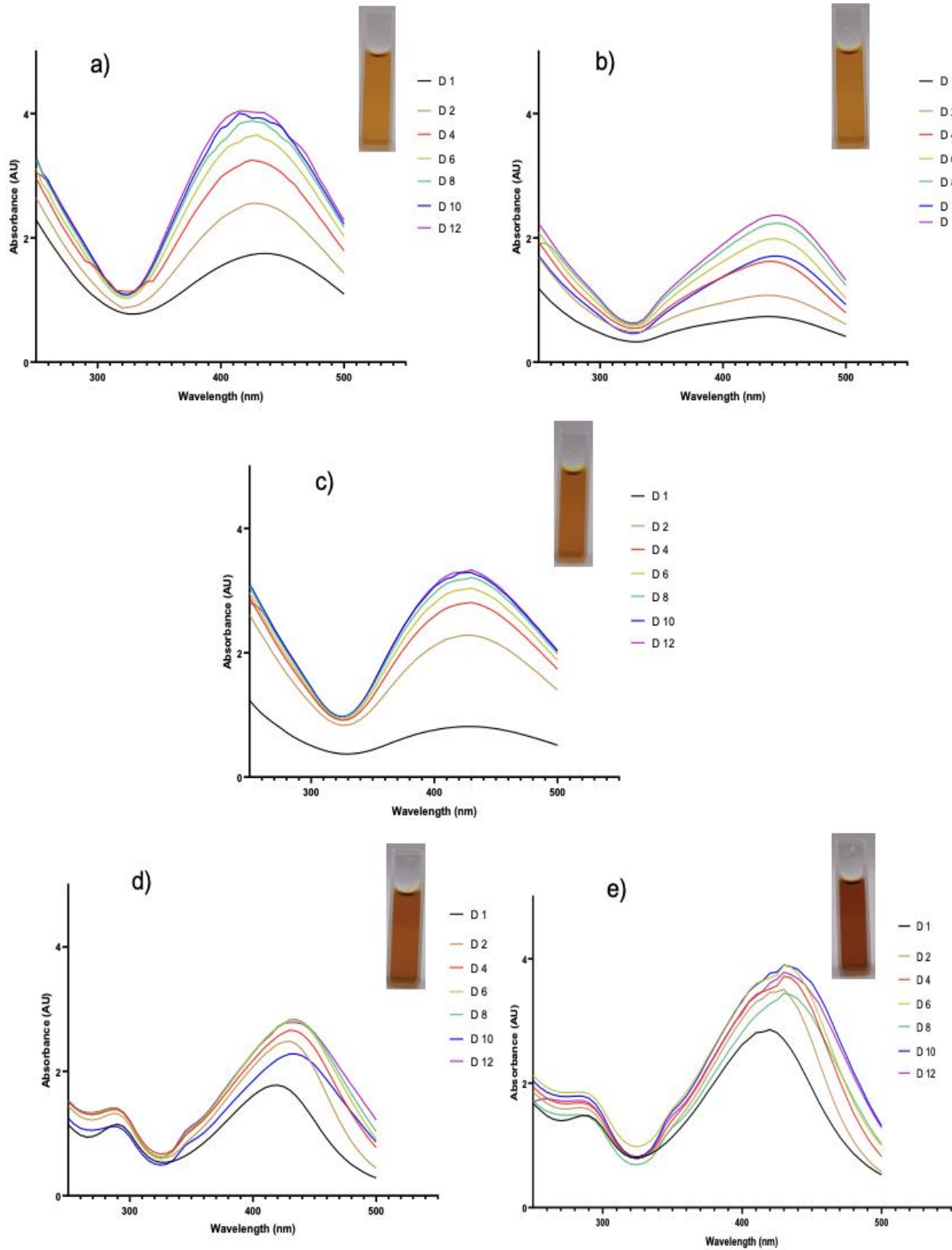


Figura 1. Síntesis de nanopartículas plasmón superficial a) G 1-25 pH 7; b) G 2-25 pH 7; c) G 1-25 pH 8 d) QGR 1-25 pH 7; e) QGC 1-25 pH 7

Actividad antimicrobiana

Las bacterias Gram negativas presentan mayor resistencia a los antibióticos debido a la complejidad estructural de su pared celular. A diferencia de las bacterias Gram positivas, las Gram negativas poseen una capa delgada de peptidoglicano cubierta por una membrana externa, la cual actúa como una barrera adicional y limita la permeabilidad de sustancias hidrofóbicas, incluidas las nanopartículas (Samuggam *et al.*, 2021). Los resultados de las pruebas de difusión en disco para todos los sistemas se muestran en las Tablas 2 y 3. Todos los sistemas exhibieron actividad antimicrobiana.

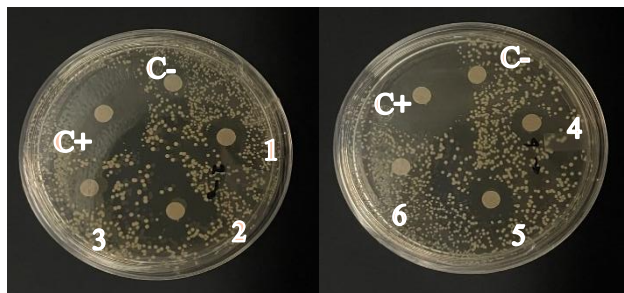


Figura 2. Caja Petri con la difusión de los discos para la inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC-6538 y actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata (AgNPs) representativas sintetizadas a partir de garambullo. 1. QGR; 2. QGC; 3. G 1-25 pH 7; 4. G 2-25 pH 7; 5. G 1-25 pH 8; y 6. Garambullo sin síntesis de nanopartículas de plata; C+ antibiótico azitromicina; C- caldo nutritivo LB.

El control GB, corresponde al extracto puro sin nanopartículas de plata, el cual se observó que no presentó zona de inhibición tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, como para *Escherichia coli* ATCC 25922, durante las 24, 48 y 72 h de evaluación (Tabla 2 y 3). Lo que nos indica que el extracto por sí solo no ejerció una actividad antibacteriana detectable mediante el método de difusión en disco, lo cual puede ser debido a que posiblemente el método presenta limitaciones para la evaluación de extractos vegetales complejos (Bubonja-Šonje *et al.*, 2020)

En la Tabla 2, los sistemas sintetizados con extracto de garambullo mostraron un mayor halo de inhibición contra *S. aureus*. Los sistemas de AgNPs con quercetina química (QGR y QGC) presentaron una reducción en la zona de inhibición con el tiempo, lo cual era esperado, ya que las mediciones de UV/Vis indicaron que las AgNPs se aglomeraron y la resonancia plasmónica disminuyó gradualmente, a diferencia de aquellas sintetizadas con extracto de garambullo. Vanlalveni *et al.*, 2021; Jain *et al.*, 2021, mencionan que la disminución de la actividad antimicrobiana de las AgNPs, está relacionado con la estabilidad coloidal ya que esta favorece la formación de conglomerados de mayor tamaño y provoca la reducción del área de interacción con la membrana de las bacterias y en consecuencias hay liberación de Ag^+ .

En cuanto a los sistemas con Garambullo, se observó que solo el que mostró un aumento en su resonancia plasmónica fue el G 1-25, pH 8, que presentó una mejor inhibición frente a *S. aureus* a las 72 horas. Esto podría deberse a la mayor presencia de nanopartículas de plata (AgNP), resultado de la adecuada presencia y proporción de quercetina natural en el garambullo, que supera a la quercetina sintética. Para la cepa *E. coli* ATCC-25922, la efectividad fue menor y mostró una mejor inhibición frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC-6538. Este comportamiento coincide con lo reportado por Bruna *et al.*, 2021 y Rodrigues *et al.*, 2024, quienes describen que las bacterias Gram negativas suelen mostrar una mayor resistencia relativa a las AgNPs debido a la complejidad de su envoltura celular.

Los resultados en la Tabla 3 mostraron que los sistemas de AgNPs QGR y QGC presentaron una disminución en el halo de inhibición con el tiempo. En cuanto a los sistemas con garambullo, solo aquellos que mostraron un aumento en su resonancia plasmónica (G 2-25 pH 7 y G 1-25 pH 8) demostraron mejor inhibición contra *E. coli* a las 72 horas.

Tabla 2. Actividad antibacteriana por método de difusión por discos de todos los sistemas de AgNPs contra *Staphylococcus aureus* ATCC-6538

Sistemas de AgNPs	Zona media de inhibición (mm)		
	24 H	48 H	72 H
G 1-25 pH 7	23.33±0.31 ^c	21.07±0.31 ^c	20.03±0.28 ^d
G 2-25 pH 7	25.20±0.26 ^c	24.57±0.21 ^c	20.87±0.42 ^d
G 1-25 pH 8	26.23±0.25 ^b	26.00±0.01 ^b	24.83±0.29 ^b
QRG	25.40±0.20 ^c	20.07±0.31 ^f	18.90±0.17 ^e
QCR	24.87±0.23 ^d	23.67±0.23 ^d	21.81±0.32 ^c
Control GB	-	-	-
Control +	30.00±0.00 ^a	29.90±0.17 ^a	28.63±0.38 ^a
Control -	-	-	-

Letras iguales entre columnas indican ausencia de diferencias significativas (ANOVA–Tukey, $p \leq 0.05$).

Cabe destacar que *Staphylococcus aureus* presentó halos de inhibición de mayor diámetro en comparación con *Escherichia coli*. Este comportamiento puede atribuirse a las diferencias estructurales presentes en sus paredes celulares. Las bacterias Gram positivas, como *S. aureus*, poseen una pared celular compuesta principalmente por una gruesa capa de peptidoglucano y carecen de una membrana externa, lo que facilita la interacción y penetración de los agentes antimicrobianos. En contraste, las bacterias Gram negativas, como *E. coli*, presentan una estructura celular más compleja, caracterizada por una capa delgada de peptidoglucano rodeada por una membrana externa rica en lipopolisacáridos, la cual actúa como una barrera adicional que limita la entrada de compuestos antimicrobianos (Rabha *et al.*, 2024). Como consecuencia, *E. coli* exhibió una menor sensibilidad frente a las nanopartículas de plata, reflejada en diámetros de inhibición más reducidos en comparación con los observados para *S. aureus*.

Tabla 3. Actividad antibacteriana por el método de difusión por discos de todos los sistemas de nanopartículas de plata (AgNPs) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

Sistemas de AgNPs	Zona media de inhibición (mm)		
	24 H	48 H	72 H
G 1-25 pH 7	11.83±0.80 ^d	11.76±0.57 ^d	10.52±0.50 ^c
G 2-25 pH 7	13.56±0.43 ^b	12.73±0.80 ^b	11.67±0.76 ^a
G 1-25 pH 8	14.49±0.45 ^a	12.77±0.37 ^b	11.82±0.42 ^a
QRG	11.62±0.54 ^d	11.43±0.38 ^e	10.67±0.58 ^c
QCR	14.40±0.53 ^a	13.33±0.58 ^a	11.33±0.58 ^b
Control GB	-	-	-
Control +	13.05±0.08 ^b	12.53±0.25 ^c	11.80±0.10 ^a
Control -	-	-	-

Letras iguales entre columnas indican ausencia de diferencias significativas (ANOVA–Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El extracto de garambullo mostró mayor contenido fenólico y capacidad antioxidante, permitiendo la síntesis de AgNPs más estables, con mejor respuesta óptica y mayor actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* que los sistemas con quercetina, mientras que la menor inhibición en *Escherichia coli* evidenció la influencia

estructural bacteriana, confirmando el efecto sinérgico de su complejidad fitoquímica y su potencial como recurso valorizable en nanotecnología alimentaria dentro de un enfoque de economía circular.

AGRADECIMIENTOS

María Guadalupe López-Cortés agradece a SECIHTI por la beca doctoral 1149972. Ma. Cristina Irma Pérez-Pérez agradece al TecNM por la financiación y apoyo al proyecto 22063.25-P (Síntesis de nanopartículas de plata a partir de extractos naturales como agentes reductores bioactivos).

BIBLIOGRAFÍA

- Abada, E., Mashraqi, A., Modafar, Y., Al Abboud, M. A., & El-Shabasy, A. (2024). Review: Green synthesis of silver nanoparticles by using plant extracts and their antimicrobial activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(1), 103877. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103877>
- Arshad, F., Naikoo, G. A., Hassan, I. U., Chava, S. R., El-Tanani, M., Aljabali, A. A., & Tambuwala, M. M. (2024). Bioinspired and green synthesis of silver nanoparticles for medical applications: A green perspective. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196, 3636–3669. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04719-z>
- Badi'Ah, H. I., Seede, F., Supriyanto, G., & Zaidan, A. H. (2019). Synthesis of silver nanoparticles and the development in analysis method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217(1), 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012005>
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., & Abram, M. (2020). Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 71(4), 300–311. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396>
- Grigoras, A. G., & Grigoras, V. C. (2024). Eco-friendly silver nanoparticles obtained by green synthesis from *Salvia officinalis*. *Sustainable Chemistry*, 5(3), 215–228. <https://doi.org/10.3390/suschem5030014>
- Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Huq, M. A., Ashrafudoulla, M., Rahman, M. M., Balusamy, S. R., & Akter, S. (2022). Green synthesis and potential antibacterial applications of bioactive silver nanoparticles: A review. *Polymers*, 14(4), 742. <https://doi.org/10.3390/polym14040742>
- Ibrahim, N. H., Taha, G. M., Hagaggi, N. S. A., & Moghazy, M. A. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles and its environmental sensor ability to some heavy metals. *BMC Chemistry*, 18, Article 7. <https://doi.org/10.1186/s13065-023-01105-y>
- Jain, A. S., Pawar, P. S., Sarkar, A., Junnuthula, V., & Dyawanapelly, S. (2021). Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11993. <https://doi.org/10.3390/ijms222111993>
- Jain, S., & Mehata, M. S. (2017). Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Scientific Reports*, 7(1), 15867. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15724-8>
- López-Cortés, M. G., Peña-Juarez, M. G., Angel-Olarte, C. M. D., Delgado-Alvarado, E., Gonzalez-Calderon, J. A., & Pérez-Pérez, M. C. I. (2025). Green synthesis of silver nanoparticles using *Myrtillocactus*

geometrizans extract for enhancing stability and antimicrobial properties. *ChemistrySelect*, 10(45), e03730. <https://doi.org/10.1002/slct.202503730>

- López-Palestina, C. U., Aguirre-Mancilla, C. L., Ramírez-Pimentel, J. G., Raya-Pérez, J. R., Santiago-Saenz, Y. O., Gutiérrez-Tlahque, J., & Hernández-Fuentes, A. (2019). Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en tres estados de madurez de *Myrtillocactus geometrizans* provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4(1), 317–322.
- Pacheco, A. R. F., Cardoso, B. D., Pires, A., Pereira, A. M., Araújo, J. P., Carvalho, V. M., Rodrigues, R. O., Coutinho, P. J. G., Castelo-Grande, T., & Castanheira, E. M. S. (2023). Development of pH-sensitive magnetoliposomes containing shape anisotropic nanoparticles for potential application in combined cancer therapy. *Nanomaterials*, 13(6), 1051. <https://doi.org/10.3390/nano13061051>
- Parmar, S., Kaur, H., Singh, J., Matharu, A. S., Ramakrishna, S., & Bechelany, M. (2022). Recent advances in green synthesis of Ag NPs for extenuating antimicrobial resistance. *Nanomaterials*, 12(7), 1115. <https://doi.org/10.3390/nano12071115>
- Rabha, D., Sarma, H., Borah, M., Ghose, V., Barman, D., Rao, S., Sarma, H. S., Devi, R., & Chandra Boruah, D. (2024). *Clerodendrum japonicum* (Thunb.) Sweet leaf extract supported nanosilver particles: Characterization, antioxidant and antibacterial activity. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 62(6), 1065–1076. <https://doi.org/10.15625/2525-2518/19376>
- Ramírez-Rosas, S. L., Delgado-Alvarado, E., Sánchez-Vargas, L. O., Herrera-May, A. L., Peña-Juárez, M. G., & González-Calderon, J. A. (2022). Green route to produce silver nanoparticles using the bioactive flavonoid quercetin as a reducing agent and food anti-caking agents as stabilizers. *Nanomaterials*, 12(19), 3545. <https://doi.org/10.3390/nano12193545>
- Rizwana, H., Alwhibi, M. S., Aldarsone, H. A., Awad, M. A., Soliman, D. A., & Bhat, R. S. (2021). Green synthesis, characterization, and antimicrobial activity of silver nanoparticles prepared using *Trigonella foenum-graecum* L. leaves grown in Saudi Arabia. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 421–429. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0043>
- Rodrigues, A. S., Batista, J. G. S., Rodrigues, M. Á. V., Thipe, V. C., Minarini, L. A. R., Lopes, P. S., & Lugão, A. B. (2024). Advances in silver nanoparticles: A comprehensive review on their potential as antimicrobial agents and their mechanisms of action elucidated by proteomics. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1440065. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1440065>
- Samuggam, S., Chinni, S. V., Mutusamy, P., Gopinath, S. C., Anbu, P., Venugopal, V., Reddy, L. V., & Enugutti, B. (2021). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Spondias mombin* extract and their antimicrobial activity against biofilm-producing bacteria. *Molecules*, 26(9), 2681. <https://doi.org/10.3390/molecules26092681>
- Sánchez-Recillas, E., Campos-Vega, R., Pérez-Ramírez, I. F., Luzardo-Ocampo, I., Cuéllar-Núñez, M. L., & Vergara-Castañeda, H. A. (2022). Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*): Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phytochemicals. *Food & Function*, 13(8), 4699–4713. <https://doi.org/10.1039/D1FO04392G>
- Shahzadi, S., Fatima, S., Shafiq, Z., & Janjua, M. R. S. A. (2025). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *RSC Advances*, 15, 3858–3903. <https://doi.org/10.1039/D4RA07519F>
- Sharma, R., Basist, P., Alhalmi, A., Khan, R., Noman, O. M., & Alahdab, A. (2023). Synthesis of quercetin-loaded silver nanoparticles and assessing their anti-bacterial potential. *Micromachines*, 14(12), 2154. <https://doi.org/10.3390/mi14122154>
- Singh, S., Arya, H., Sahu, W., Reddy, K. S., Nimesh, S., Alotaibi, B. S., & Kumar Bhatt, T. (2024). Green synthesized silver nanoparticles of *Terminalia bellirica* leaves extract: Synthesis, characterization, in-

silico studies, and antimalarial activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 52(1), 238–249. <https://doi.org/10.1080/21691401.2024.2339429>

Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (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)

Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review of recent literature. *RSC Advances*, 11, 2804–2837. <https://doi.org/10.1039/D0RA09941D>

Aprovechamiento de Cáscaras de Mango para la Obtención de Pectina: Optimización del Proceso y Evaluación Fisicoquímica

Valorization of Mango Peels for Pectin Production: Process Optimization and Physicochemical Evaluation

Zárate Castillo G.^{1,2}, Damián Hernández X.^{1,2}, Chávez Portillo M.³, Soto Reyes N.^{4,5}, Ruiz López I.I.² y Martínez Ramos T.^{5*}

¹Programa de Ingeniería en Alimentos, Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz (UTCV).

²Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

³Centro de Investigación en Dispositivos Semiconductores, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

⁴Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato.

⁵Programa de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica Metropolitana de Puebla (UPMP).

*tania.martinez@metropoli.edu.mx

RESUMEN:

Los residuos agroindustriales constituyen un recurso sostenible y de bajo costo para la obtención de compuestos bioactivos y a su vez representan una problemática ambiental. La obtención de pectina a partir de cáscara de mango puede contribuir a una economía circular en el sector agroindustrial, mitigando el problema de su disposición final al aprovechar este subproducto. Se realizó la obtención de pectina de cáscara de mango mediante la extracción con una solución de ácido cítrico 0.1 M y en una relación sólido líquido 1:20. Para identificar el efecto de la temperatura (60, 75 y 90°C), y tiempo (30, 60 y 90 min) sobre el rendimiento, se empleó un diseño factorial 3². Se determinó que en todos los tratamientos se obtuvo pectina de alto metoxilo; de acuerdo con el modelo de regresión las condiciones óptimas de extracción son a 75°C y 90 min, con lo cual se obtuvo un rendimiento del 26.34%, para estas condiciones el grado de esterificación (GE) de la pectina extraída fue de 92.37%, y la capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAC) fueron de 1.12±0.04 g/g y 2.07 ± 0.16 g/g respectivamente. La pectina extraída tiene potencial para ser agente espesante, gelificante y estabilizante.

PALABRAS CLAVE: Pectina, Química verde, Grado de esterificación, Capacidad de Retención de Agua, Capacidad de Retención de Aceite.

ABSTRACT:

Agro-industrial residues constitute a sustainable, low-cost resource for obtaining bioactive compounds, while also representing an environmental problem. In this context, extracting pectin from mango peels would contribute to establishing a circular economy in the agro-industrial sector, as it would mitigate disposal issues by valorizing these by-products. Pectin was obtained from mango peels by extraction with a 0.1 M citric acid solution at a solid-to-liquid ratio of 1:20. To identify the effect of temperature (60, 75, and 90°C) and time (30, 60, and 90 min) on the yield, a 3² factorial design was used. It was found that high-methoxyl pectin was obtained in all treatments; according to the regression model, the optimal extraction conditions were 75°C and 90 min, with which a yield of 26.34% was obtained. Under these conditions, the degree of esterification (DE) of the extracted pectin was 92.37%, and the water retention capacity (WRC) and oil retention capacity (ORC) were 1.12±0.04 g/g and 2.07 ± 0.16 g/g, respectively. The extracted pectin has potential to be a thickening, gelling, and stabilizing agent.

KEYWORDS: Pectin, Green Chemistry, Degree of Esterification, Water Holding Capacity, Oil Holding Capacity.

INTRODUCCIÓN

En México, la producción de frutas representa una de las actividades económicas más importantes a nivel nacional, al representar el 8.83% del PIB. México es uno de los mayores productores de mango a nivel internacional, en el año 2020 la producción mundial de mango fue de 60.65 millones de toneladas, de las cuales México aportó 2.37 millones, ubicándose como el cuarto productor a nivel global (Martínez-Hernández *et al.*, 2025). Además de consumirse fresco, el mango se procesa a nivel industrial para la obtención de pulpa, puré, mermelada, jalea, así como productos congelados, enlatados y deshidratados (Saravanan & Jeevitha, 2024). Por otra parte, el crecimiento de la población mundial y los cambios en los patrones de consumo han incrementado la producción industrial de alimentos, generando grandes volúmenes de residuos agroindustriales como cáscaras, semillas y otras fracciones no comestibles. Estos subproductos representan una pérdida importante de compuestos bioactivos valiosos y, al ser dispuestos en vertederos, su descomposición anaeróbica contribuye a la emisión de metano, agravando la huella ambiental del sector (Şen *et al.*, 2024). No obstante, su bajo costo, abundancia y carácter renovable los convierten en materias primas atractivas para la recuperación de componentes de interés. En este contexto, la valorización de residuos agroindustriales se ha convertido en una estrategia clave para reducir la contaminación y promover la economía circular (Saravanan & Jeevitha, 2024).

Los subproductos del procesamiento de frutas destacan por su contenido en compuestos bioactivos y biopolímeros como la pectina (Turan *et al.*, 2024; Muslu Can *et al.*, 2024). La pectina es un heteropolisacárido presente en la pared celular de los vegetales, constituido principalmente por unidades de ácido D-galacturónico unidas mediante enlaces glucosídicos $\alpha(1\rightarrow4)$, las cuales pueden estar parcialmente metiladas y/o acetiladas, además de presentar regiones ramificadas como los ramnogalacturonanos tipo I y II (Pacheco *et al.*, 2022). Su funcionalidad está estrechamente relacionada con su grado de esterificación (GE), parámetro que determina sus propiedades gelificantes. Las pectinas de alto metoxilo (GE > 50%) son especialmente valoradas por su capacidad espesante, gelificante y emulsionante, lo que favorece su aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (Shubhangi *et al.*, 2026). Tradicionalmente, la pectina se obtiene a partir de subproductos como cáscaras de cítricos y pulpa de manzana; sin embargo, la búsqueda de nuevas fuentes ha impulsado el estudio de otros residuos agroindustriales. En este sentido, el mango (*Mangifera indica* L.) es una materia prima de gran interés, ya que durante su procesamiento se generan cantidades considerables de residuos, principalmente cáscara y semilla. La cáscara, que representa aproximadamente el 15% del fruto, contiene fibra y compuestos bioactivos que la convierten en una fuente potencial para la obtención de pectina (Pacheco-Jiménez *et al.*, 2024). No obstante, este subproducto suele ser desaprovechado y destinado a compostaje o desecho, lo que limita su aprovechamiento integral. Por otra parte, los métodos convencionales de extracción de pectina utilizan ácidos inorgánicos, como el ácido clorhídrico o sulfúrico, que pueden generar impactos ambientales y afectar la estructura del biopolímero. Por ello, en años recientes se ha promovido el uso de ácidos orgánicos, como el ácido cítrico, así como la optimización de variables de proceso como la temperatura y el tiempo de extracción, con el fin de mejorar el rendimiento y preservar las propiedades funcionales de la pectina. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la temperatura y el tiempo de extracción empleando una solución de ácido cítrico 0.1 M como medio de extracción, mediante un diseño experimental 3^2 , con el fin de determinar las condiciones óptimas que permitan maximizar el rendimiento de pectina a partir de cáscaras de mango, contribuyendo así a la valorización de este subproducto agroindustrial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y preparación de la cáscara de mango

Los mangos variedad manila (*M. indica* L.) se adquirieron en un mercado local de Puebla, México. Las cáscaras se deshidrataron en un horno (RIOSSA, H-41, México) a 50°C hasta alcanzar un peso constante; posteriormente, se molieron y tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula $\leq 500 \mu\text{m}$. El polvo de cáscara de mango se almacenó en un recipiente con cierre hermético y se mantuvo en la oscuridad hasta su uso.

Extracción de pectina con ácido cítrico

El proceso de extracción se realizó mezclando 2.5 g de polvo de cáscara de mango con 50 mL de una solución de ácido cítrico 0.1 M (pH=1.8). La extracción se llevó a cabo a diferentes temperaturas (60-90 °C) y tiempos (30-90 min) de extracción, a 1000 rpm en una parrilla de agitación (SP88854100, Thermo Scientific Digital, EE. UU.). La selección de los intervalos experimentales de temperatura y tiempo se definieron con base en estudios previamente reportados en la literatura (Saravanan *et al.*, 2024; Şen *et al.*, 2024; Gemechu *et al.*, 2024). Posteriormente, se centrifugó (SOLBAT, C-40, México) a 3,500 rpm durante 20 min; se recuperó el sobrenadante y se descartaron los sólidos sedimentados. El sobrenadante se mezcló con un volumen igual de etanol absoluto y se mantuvo a 4 °C durante 24 h. Los sólidos floculados se separaron mediante filtración con papel filtro y se secaron a 60 °C durante 24 h. Todas las extracciones se realizaron por triplicado. El rendimiento de extracción se calculó de acuerdo con la Ec. (1).

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso de la pectina de mango seca (g)}}{\text{Peso de la cáscara de mango en polvo seca (g)}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Diseño experimental

Se empleó un diseño factorial 3^2 (Tabla I), ajustado mediante un modelo de regresión cuadrática (Ec. 2). La temperatura (x_1) y el tiempo (x_2) representan las variables independientes, mientras que el Rendimiento (%) es la variable de respuesta (y). El coeficiente β_0 corresponde a la intersección del modelo; β_1 y β_2 representan los efectos lineales; β_{12} describe la interacción entre factores; y β_{11} y β_{22} corresponden a los efectos cuadráticos (Montgomery, 2017). Se llevó a cabo un análisis de regresión que permitió estimar los coeficientes correspondientes a los efectos lineales, cuadráticos y sus interacciones, empleando el software Statistica® 13.0. La calidad del ajuste del modelo obtenido se evaluó mediante el coeficiente de determinación (R^2), mientras que la significancia estadística de los coeficientes se determinó a partir de intervalos de confianza del 95%. Los tratamientos se realizaron por triplicado.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 \quad \text{Ec. 2}$$

Grado de esterificación

La pectina obtenida de cáscara de mango, se analizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR). Los espectros se registraron en el intervalo de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} utilizando un espectrofotómetro FTIR (Spectrum 3, PerkinElmer, EE. UU.). Se determinaron las áreas de los picos a 1740 cm^{-1} (que representan grupos carboxílicos esterificados) y a 1630 cm^{-1} (que representan grupos de ácido carboxílico), el grado de esterificación (GE, %) se calculó mediante la siguiente Ec. (3) (Turan *et al.*, 2024):

$$GE (\%) = \frac{\text{Área del pico a } 1740 \text{ cm}^{-1}}{\text{Área del pico a } 1740 \text{ cm}^{-1} + \text{Área del pico a } 1630 \text{ cm}^{-1}} \times 100 \quad \text{Ec. 3}$$

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Se mezclaron 20 mg de pectina con 2 mL de agua destilada y se agitaron durante 15 min en un vortex (Hs120209, Heathrow Scientific, EE. UU.). Posteriormente, se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 60 min y se centrifugó (CENTRIFICIENT^{III}, CRM Globe, EE. UU) a 10,000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se retiró y el agua retenida se estimó mediante la Ec. (4) (Saelee *et al.*, 2025):

$$CRA (\text{g/g}) = \frac{\text{Peso de pectina hidratada (g)} - \text{Peso de la pectina seca (g)}}{\text{Peso de la pectina seca (g)}} \quad \text{Ec. 4}$$

Capacidad de Retención de Aceite (CRAc)

Se mezcló 1 g de pectina con 10 mL de aceite comestible y se agitó (SP88854100, Thermo Scientific Digital, EE. UU.) durante 5 h. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 10,000 rpm durante 15 min; el sobrenadante se dejó drenar durante 30 min y el aceite retenido se determinó a partir de la Ec. (5) (Saelee *et al.*, 2025):

$$\text{CRAc (g/g)} = \frac{\text{Peso de la pectina aceitada (g)} - \text{Peso de la pectina seca (g)}}{\text{Peso de la pectina seca (g)}} \quad \text{Ec. 5}$$

Contenido Fenólico Total (CFT)

El CFT se midió utilizando el método Folin-Ciocalteu reportado por Martínez-Ramos *et al.* (2020). Para la determinación del CFT, se mezclaron 100 µL de extracto con 2 mL de agua destilada y 200 µL de reactivo Folin–Ciocalteu (Sigma-Aldrich, F9252, EE. UU.). La mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 3 minutos. Posteriormente, se añadió 1 mL de carbonato de sodio (Golden Bell, 26240, México) al 20 %, se agitó nuevamente y se dejó reposar durante una hora en condiciones de oscuridad. La absorbancia se midió a 765 nm utilizando un espectrofotómetro (GENESYS 10S, Thermo Scientific, EE. UU.). La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración de ácido gálico (Sigma-Aldrich, G7384, EE. UU.), y los resultados se expresaron como mg de ácido gálico (GAE)/100 g masa seca (m.s).

Actividad Antioxidante (AA)

La AA se cuantificó utilizando el ensayo DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) reportado por Martínez-Ramos *et al.* (2020). Para la preparación del radical DPPH se mezclaron 4 mg de DPPH (Sigma-Aldrich, D9132, EE. UU.) con 100 mL de etanol absoluto, la solución obtenida se dejó en reposo en la oscuridad durante 30 min, después en un tubo de ensaye se mezclaron 1.5 mL del extracto o muestra con 1.5 mL del radical DPPH, la mezcla obtenida se agitó suavemente y se dejó en reposo en la oscuridad a temperatura ambiente, durante 30 min. La absorbancia fue leída a 515 nm y los resultados fueron expresados en mg de Trolox/100 g de m.s. Los análisis se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización y rendimiento de extracción

En la Tabla I se presentan los datos obtenidos del diseño experimental para el rendimiento de extracción de pectina a partir de cáscara de mango, utilizando una solución de ácido cítrico 0.1 M como medio de extracción. La Fig. 1 muestra el gráfico de superficie de respuesta obtenido, en el cual se observa el efecto de la temperatura y el tiempo sobre el rendimiento (%) de la pectina extraída. Los datos experimentales se ajustaron a un modelo de regresión cuadrática y se analizaron mediante ANOVA; el modelo resultante se presenta en la Ec. 6. Los términos lineales (x_1 y x_2), la interacción entre ellos (x_1x_2) y el término cuadrático (x_1^2) fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$). El signo positivo de los coeficientes lineales indica que el incremento de la temperatura y el tiempo favorece el rendimiento de extracción. No obstante, se observó un efecto antagónico de la interacción x_1x_2 , lo que sugiere que, aunque ambos factores influyen positivamente de manera individual, su combinación a valores elevados de temperatura y tiempo deja de ser favorable para la extracción de pectina. El modelo presentó un ajuste adecuado a los datos experimentales ($R^2 = 0.81$), indicando que el 81 % de la variabilidad observada en el rendimiento de extracción fue explicada por las variables evaluadas (temperatura y tiempo de extracción) y sus interacciones. Aunque este coeficiente de determinación no explica la totalidad de la variabilidad del sistema, puede considerarse aceptable para procesos de extracción de biomoléculas a partir de materias primas naturales, donde la

respuesta experimental está influenciada por la heterogeneidad propia del material vegetal y por las condiciones del proceso de extracción. La variabilidad no explicada por el modelo puede atribuirse a variables no consideradas en el diseño experimental, como el tamaño de partícula (Durán et al., 2015), la relación sólido-líquido (Saravanan & Jeevitha, 2024), las diferencias en el grado de madurez (Sayed et al., 2022) y composición química de las cáscaras de mango, así como variaciones propias del proceso experimental (Vellaisamy Singaram & Ganesan, 2022; Durán et al., 2015).

El mayor rendimiento se obtuvo a 75 °C y 90 min ($26.34 \pm 1.25\%$), mientras que el menor rendimiento se registró a 60 °C y 30 min ($11.45 \pm 2.44\%$). Según el modelo de regresión cuadrática (Ec. 6), las variables óptimas para lograr el máximo rendimiento en la extracción (26.86%) se determinaron a 75°C y 90 min.

$$y = 24.025 + 2.146x_1 + 3.290x_2 - 2.078x_1x_2 - 6.060x_1^2 - 0.450x_2^2 \quad \text{Ec. 6}$$

A pesar de esta variabilidad, el modelo presentó una adecuada capacidad predictiva, ya que las condiciones óptimas estimadas (75 °C y 90 min) coincidieron con el tratamiento que experimentalmente produjo el mayor rendimiento de extracción ($26.34 \pm 1.25\%$), mientras que el rendimiento predicho por el modelo fue de 26.86 %. La diferencia de únicamente 0.52% entre ambos valores respalda la robustez del modelo y confirma que las condiciones óptimas propuestas son confiables para maximizar el rendimiento de extracción de pectina bajo las condiciones evaluadas.

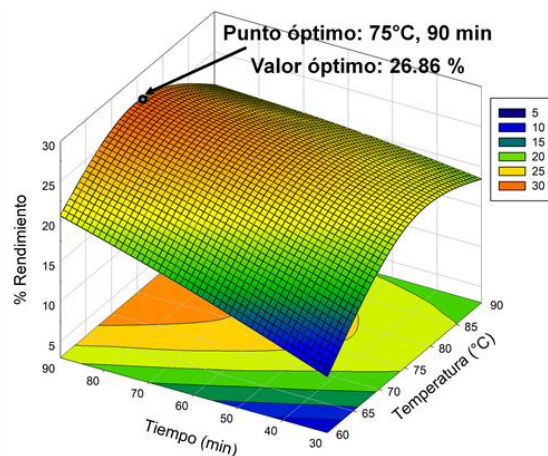


Figura 1. Gráfico de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática que muestran el efecto del tiempo y temperatura de extracción sobre el porcentaje de rendimiento de extracción de pectina obtenida a partir de cáscaras de mango.

Al incrementar la temperatura de 60 a 75 °C, el rendimiento de extracción aumentó alrededor de 2.3 veces, lo cual puede explicarse por el efecto del calentamiento, el cual favorece la ruptura de la pared celular, liberando compuestos que antes no estaban disponibles y, en consecuencia, mejorando la transferencia de masa (Öztürk *et al.*, 2024). Sin embargo, al aumentar las condiciones de extracción a 90 °C y 90 min, se observó una disminución en el rendimiento, atribuido a la degradación térmica de la pectina debido al prolongado tiempo de extracción.

Resultados similares fueron reportados por Karim *et al.* (2022) quienes obtuvieron el rendimiento máximo de extracción de pectina de 30.60% y 31.70%, a partir de cáscaras de limón y mango a 80 °C durante 5 h con una solución de ácido cítrico, lo que evidencia que el empleo de un ácido orgánico favorece la extracción sin provocar una degradación importante de la pectina. En contraste, Li et al. (2025) extrajeron pectina de cáscara de mango de la variedad *Nam Dok Mai* utilizando HCl (pH = 2) a 90 °C durante 2 h, obteniendo un rendimiento cercano al 12

%. Los autores atribuyeron este comportamiento a que un pH altamente ácido, combinado con temperaturas elevadas, favorece la hidrólisis de la pectina, reduciendo su rendimiento de extracción.

Por otra parte, Pacheco-Jiménez et al. (2024) reportaron rendimientos entre 17.34 y 22.85 % en cuatro cultivares mexicanos de mango (Ataulfo, Panameño, Manila y Haden) utilizando una solución de ácido cítrico (pH=1) a 80 °C durante 60 min. Para la variedad manila, los autores obtuvieron un rendimiento del $18.43 \pm 0.27\%$, inferior al obtenido en el presente estudio ($26.34 \pm 1.25\%$), aun cuando en ambos trabajos se empleó la misma variedad de mango. Esta diferencia puede atribuirse a las distintas condiciones de extracción utilizadas, particularmente a la concentración del ácido, el pH del medio, el tiempo de extracción.

En conjunto, estos antecedentes indican que las diferencias observadas entre el presente estudio y los reportados en la literatura no dependen únicamente de la temperatura y el tiempo de extracción, sino también del tipo y concentración del ácido, del pH del medio de extracción, de las características fisicoquímicas de la materia prima y de la metodología de extracción empleada. En este contexto, el empleo de ácido cítrico 0.1 M permitió alcanzar un rendimiento de 26.34 % a 75 °C y 90 min, condiciones que representan un equilibrio entre la liberación eficiente de la pectina y la conservación de su integridad estructural, minimizando su degradación durante el proceso de extracción.

Tabla I. Diseño experimental y rendimiento de extracción, grado de esterificación (GE), capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAc) de la pectina obtenida a partir de cáscaras de mango.

#	Factores		Rendimiento	GE	CRA	CRAc
Tratamientos	x_1 (T, °C)	x_2 (t, min)	(%)	(%)	(g agua/g pectina seca)	(g aceite/g pectina seca)
1	-1 (60)	-1 (30)	11.45 ± 2.44^c	93.79 ± 1.40^{ab}	1.43 ± 0.12^{bcd}	2.23 ± 0.09^{ab}
2	-1 (60)	0 (60)	12.44 ± 0.22^c	94.35 ± 1.33^{ab}	2.04 ± 0.16^a	1.96 ± 0.00^b
3	-1 (60)	1 (90)	22.65 ± 0.11^a	89.06 ± 0.65^d	1.81 ± 0.29^{ab}	2.40 ± 0.03^a
4	0 (75)	-1 (30)	20.69 ± 1.23^{ab}	89.90 ± 0.35^{cd}	1.25 ± 0.09^{cd}	2.27 ± 0.16^{ab}
5	0 (75)	0 (60)	24.14 ± 1.92^a	91.37 ± 0.17^{bcd}	1.92 ± 0.04^{ab}	2.04 ± 0.08^{ab}
6	0 (75)	1 (90)	26.34 ± 1.25^a	92.37 ± 0.60^{abc}	1.12 ± 0.04^d	2.07 ± 0.16^{ab}
7	1 (90)	-1 (30)	16.58 ± 1.17^{bc}	91.85 ± 0.49^{bcd}	1.59 ± 0.11^{abc}	2.17 ± 0.24^{ab}
8	1 (90)	0 (60)	23.37 ± 0.24^a	93.11 ± 0.19^{ab}	1.42 ± 0.04^{bcd}	2.07 ± 0.05^{ab}
9	1 (90)	1 (90)	19.47 ± 1.20^{ab}	94.92 ± 0.10^a	1.60 ± 0.12^{abc}	2.12 ± 0.09^{ab}

Valores expresados como media $\pm$ desviación estándar (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas, entre tratamientos según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Análisis FTIR

El análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica ampliamente utilizada para examinar los espectros de absorción de materiales en el infrarrojo. Los espectros FTIR de las pectinas obtenidas bajo diferentes condiciones de temperatura y tiempo de extracción (Fig. 2) mostraron las bandas características de este polisacárido, sin evidenciar cambios en la estructura química básica. En todos los tratamientos se observó una banda ancha alrededor de los 3351 cm^{-1} correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace de hidrógeno de los grupos hidroxilo (-OH) relacionados con el ácido galacturónico, un pico de absorción a 2914 cm^{-1} debido a la vibración de estiramiento del enlace C-H de los grupos metilo y metileno (-CH, -CH₂ y -CH₃). Se observaron bandas en $\sim 1714\text{--}1719\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 1609\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$, asociadas al grupo carboxilo metil-esterificado (O-CH₃) y al grupo carboxilo libre (COO-), respectivamente (El Fihry *et al.*, 2024). Estas bandas son ampliamente utilizadas para evaluar el grado de esterificación (GE) de la pectina, ya que la relación entre sus áreas refleja la proporción de

grupos carboxilo esterificados y no esterificados. En los espectros se observaron ligeras variaciones en la intensidad relativa de estas bandas conforme aumentaron la temperatura y el tiempo de extracción; sin embargo, no se detectaron desplazamientos significativos en su posición, lo que indica que la estructura química principal de la pectina se conserva. De acuerdo con la ecuación utilizada para el cálculo del GE (Ec. 3), basada en la integración de las áreas de las bandas ubicadas alrededor de 1740 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} , los resultados mostraron una tendencia al incremento del grado de esterificación con el aumento de la temperatura de extracción, lo que sugiere una mayor proporción relativa de grupos metil-esterificados en las pectinas obtenidas bajo estas condiciones. Asimismo, cuando la absorbancia de la banda cercana a 1750 cm^{-1} es superior a la correspondiente a 1650 cm^{-1} , se asocia con un mayor contenido de grupos metoxilo en la pectina analizada (Srikamwang et al., 2024). Finalmente, los picos entre 1207 cm^{-1} y 1011 cm^{-1} se atribuyen al enlace glucosídico C-O-C y a la vibración del enlace simple C-O, característicos de la cadena principal de la pectina (Turan et al., 2024).

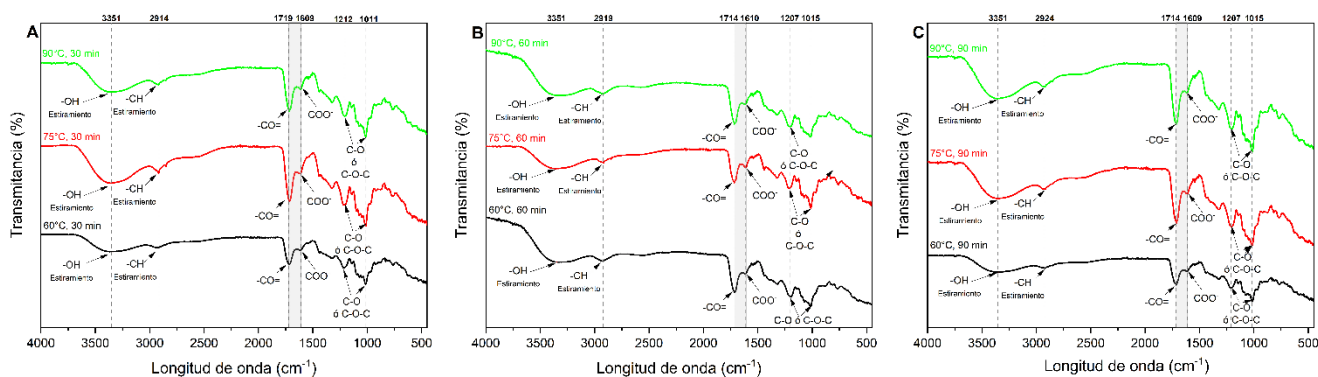


Figura 2 Espectros FTIR de pectina extraída de cáscaras de mango a diferentes temperaturas y tiempos de extracción: (A) 30 min, (B) 60 min y (C) 90 min.

En la Tabla I se muestra el grado de esterificación (GE) de la pectina obtenida bajo las diferentes condiciones de extracción evaluadas. El mayor valor de GE se registró en el tratamiento 9 ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 90 min), con un valor de $94.92 \pm 0.10\%$, mientras que el menor correspondió al tratamiento 3 ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 90 min), con $89.06 \pm 0.65\%$, observándose diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p < 0.05$). En términos generales, el grado de esterificación tendió a incrementarse con el aumento de la temperatura de extracción, lo que sugiere que temperaturas más elevadas favorecen la obtención de pectinas con un mayor contenido de grupos metoxilo. No obstante, el tratamiento 6 ($75\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 90 min), el cual correspondió a las condiciones en las que se obtuvo el mayor rendimiento de extracción de pectina, presentó un GE de $92.37 \pm 0.60\%$, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto al tratamiento 9 ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 90 min). Este resultado indica que incrementar la temperatura de extracción de 75 a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ no produce un aumento significativo del GE. Por lo tanto, las condiciones de $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 90 min representan una alternativa más conveniente, ya que permiten obtener simultáneamente el mayor rendimiento de extracción y un grado de esterificación elevado, comparable al alcanzado a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ (tratamiento 9).

En conjunto, los resultados del análisis FTIR y la determinación del GE indican que la temperatura y el tiempo de extracción influyen en el grado de esterificación de la pectina sin modificar su estructura química principal. Aunque los espectros FTIR evidenciaron ligeras variaciones en la intensidad relativa de las bandas asociadas a los grupos carboxílicos, la ausencia de desplazamientos significativos y los altos valores de GE ($>89\%$) confirmaron que las pectinas obtenidas conservaron un alto grado de esterificación bajo todas las condiciones evaluadas. Asimismo, la determinación del GE mediante la relación entre las áreas de las bandas correspondientes a los grupos carboxilo esterificados y no esterificados constituye un criterio más robusto para evaluar el estado de esterificación de la pectina que la interpretación visual de las variaciones en la intensidad de los espectros FTIR, como ha sido reportado por Chen et al. (2021).

Propiedades fisicoquímicas

En la Tabla I, se presentan los resultados de la CRA y CRAC, obtenidos de la pectina extraída para las diferentes condiciones de extracción. La mayor CRA se registró en el tratamiento 2 (60 °C, 60 min), con un valor de 2.04 ± 0.16 g agua/g de pectina seca, mientras que la menor correspondió al tratamiento 6 (75 °C, 90 min), con 1.12 ± 0.04 g agua/g de pectina seca, observándose diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p < 0.05$). Cabe mencionar que, aunque el tratamiento 9 presentó el mayor GE (94.92 ± 0.10 %), no mostró la mayor CRA, mientras que el tratamiento 6, correspondiente al mayor rendimiento de extracción, presentó la menor CRA. En cuanto a la CRAC, el valor más alto se obtuvo en el tratamiento 3 (60 °C, 90 min), con 2.40 ± 0.03 g aceite/g de pectina seca, mientras que el menor fue de 1.96 ± 0.00 g aceite/g de pectina, registrándose igualmente diferencias significativas ($p < 0.05$). Para el tratamiento 6, el cual fue el que presentó un mayor rendimiento de extracción, el valor de CRAC no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) respecto al tratamiento 3. Estos resultados indican que la CRA y CRAC no dependen exclusivamente del grado de esterificación, sino también de otros parámetros estructurales, como el peso molecular, el grado de ramificación y la longitud de las cadenas de ácido galacturónico, los cuales pueden modificarse durante el proceso de extracción (Gawkowska et al., 2018; Chen et al., 2021). En este sentido, la determinación del GE mediante FTIR proporciona información sobre la proporción de grupos carboxilo esterificados, pero no refleja por sí sola las modificaciones estructurales responsables de las propiedades funcionales de la pectina.

Finalmente, los resultados del GE, propiedades funcionales (CRA, CRAC) y antioxidantes (CFT, AA) de la pectina obtenida para el punto óptimo obtenido del modelo de regresión cuadrática (Ec. 2) se presentan en la Tabla II. El GE obtenido fue de 92.37 ± 0.60 %, lo que clasifica a la pectina como de alto metoxilo, característica que favorece su capacidad gelificante en sistemas con alto contenido de azúcar y condiciones ácidas, por lo cual podría emplearse como agente espesante, gelificante y estabilizante. En cuanto a sus propiedades funcionales, la CRA de la pectina se refiere a su habilidad para absorber y retener agua, siendo una propiedad esencial que influye en las características texturales, fisiológicas y tecnológicas de diversos productos alimenticios. En este estudio, la CRA fue de 1.12 ± 0.04 g agua/g pectina, lo que indica una adecuada afinidad por el agua, atribuida a la presencia de grupos hidroxilo. Este resultado sugiere su potencial aplicación como agente espesante en el sector alimentario. Por otro lado, la CRAC se define como la habilidad de la pectina para absorber y retener aceite dentro de su estructura, obteniéndose un valor de 2.07 ± 0.16 g aceite/g pectina. Este resultado es comparable con lo reportado por Rubio-Senent et al., (2015) para pectina de manzana comercial (2.00 g agua/g pectina y 2.22 g aceite/g pectina seca). Romdhane *et al.*, (2017) reportaron que la pectina extraída de cáscara de sandía presentó una CRA de 2 g agua/g pectina y una CRAC de 4 g aceite/g pectina. Asimismo, Saravanan & Jeevitha (2024), cuantificaron un CRA de pectina de cáscaras de mango de 3.20 g agua/g pectina y una CRAC de 15.20 g aceite/g pectina, lo que indica una mayor afinidad por compuestos lipídicos. En conjunto, estos resultados sugieren que la pectina obtenida a partir de cáscara de mango presenta una aceptable capacidad de retención de agua y una capacidad moderada de retención de aceite.

Tabla II. Grado de esterificación, propiedades funcionales y antioxidantes de la pectina obtenida de cáscaras de mango en las condiciones óptimas de extracción (75°C y 90 min).

GE (%)	CRA (g agua/ g de pectina seca)	CRAC (g aceite/ g de pectina seca)	CFT mg GAE/100 g muestra seca	AA mg TROLOX/100 g muestra seca
92.37 ± 0.60	1.12 ± 0.04	2.07 ± 0.16	2513.82 ± 72.79	18.49 ± 0.48

Valores expresados como media $\pm$ desviación estándar (n=3).

El CFT y AA (Tabla II) obtenidos de la pectina extraída de la cáscara de mango, fueron superiores en comparación con los reportados por Turan *et al.*, (2024) quienes determinaron el CFT de pectina extraída de cáscaras de naranja en un rango de 740-819 mg GAE/100 g, mientras Saravanan & Jeevitha, (2024) obtuvieron un valor de CFT de 288 mg GAE/100 g m.s, en pectina obtenida de cáscaras de mango. En cuanto a la AA, se obtuvo alrededor de la mitad

de la concentración en comparación con el estudio de Iñiguez-Moreno et al. (2024) quienes reportaron un valor de 39.3 ± 10.2 mg Trolox/100 g de pectina de cáscara de naranja bajo las condiciones de extracción que generaron el. Estas diferencias pueden atribuirse tanto al origen de la materia prima como a las condiciones de extracción, las cuales influyen en la recuperación de compuestos fenólicos asociados a la matriz de la pectina. Además, se ha señalado que la actividad antioxidante de la pectina está relacionada con la presencia de grupos polihidroxilo en su estructura, los cuales contribuyen a la neutralización de radicales libres (Mahmoud & Azab, 2025). En conjunto, los resultados evidencian que la pectina obtenida no solo presenta un alto grado de esterificación, sino también propiedades funcionales y bioactivas relevantes, lo que amplía su potencial de aplicación en la industria alimentaria como agente gelificante con valor agregado.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permitieron cumplir el objetivo planteado, al identificar las condiciones óptimas de extracción de pectina a partir de cáscaras de mango mediante el uso de una solución de ácido cítrico como medio de extracción. El modelo de regresión obtenido demostró que la temperatura y el tiempo de extracción influyen tanto en el rendimiento como en las propiedades de la pectina, alcanzando el máximo rendimiento (26.34%) bajo condiciones intermedias de temperatura (75°C y 90 min). Adicionalmente, se comprobó que la pectina obtenida presenta características fisicoquímicas y estructurales adecuadas para su aplicación industrial, destacando su alto grado de esterificación, la conservación de su estructura química y la presencia de propiedades funcionales y bioactivas relevantes. Los resultados obtenidos evidencian el potencial de las cáscaras de mango como materia prima viable para la obtención de pectina, contribuyendo al aprovechamiento integral de residuos agroindustriales y al desarrollo de procesos más sostenibles dentro del sector alimentario.

BIBLIOGRAFÍA

- Chen, J., Cheng, H., Zhi, Z., Zhang, H., Linhardt, R. J., Zhang, F., Chen, S., & Ye, X. (2021). Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 112, 106160. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106160>
- Dixit, S. S., Muruganandam, L., & Ganesh Moorthy, I. (2025). Pectin from fruit peel: A comprehensive review on various extraction approaches and their potential applications in pharmaceutical and food industries. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 9, 100708. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100708>
- Durán, R., Villa, A. L., Ribeiro, R., & Rabi, J. A. (2015). Pectin extraction from mango peels in batch reactor: Dynamic one-dimensional modeling and lattice Boltzmann simulation. *Chemical Product and Process Modeling*, 10(3), 203–210. <https://doi.org/10.1515/cppm-2015-0014>
- El Fihry, N., El Mabrouk, K., Eeckhout, M., Schols, H. A., & Hajjaj, H. (2024). Physicochemical, structural, and functional characterization of pectin extracted from quince and pomegranate peel: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 127957. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127957>
- Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. *Polymers*, 10(7), 762.
- Gemechu, B., Keyata, E. O., Geleta, T. E., Gemele, H. F., & Bayata, A. (2024). Optimization of mango peel pectin extraction (*Mangifera indica* L.): For the production of jam and jelly. *Applied Food Research*, 4(1), 100411. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100411>
- Iñiguez-Moreno, M., Pizaña-Aranda, J. J. P., Ramírez-Gamboa, D., Ramírez-Herrera, C. A., Araújo, R. G., Flores-Contreras, E. A., Iqbal, H. M. N., Parra-Saldivar, R., & Melchor-Martínez, E. M. (2024). Enhancing pectin extraction from orange peel through citric acid-assisted optimization based on a dual response. *International Journal of Biological Macromolecules*, 263(Pt 1), 130230. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130230>
- Karim, R., Nahar, K., Zohora, F. T., Islam, M. M., Bhuiyan, R. H., Jahan, M. S., & Shaikh, M. A. A. (2022). Pectin from lemon and mango peel: Extraction, characterisation and application in biodegradable

- film. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 4, 100258. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100258>
- Li, Y., Shuai, X., Zhang, M., Deng, X., Zhang, Y., Li, L., & Du, L. (2025). The physicochemical properties, structural characteristics, and rheological behavior of mango peel pectin with different degree of esterification. *Journal of Future Foods*, 7(1), 260–271. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.12.013>
- Mahmoud, M. H., & Azab, D. E.-S. H. (2025). Upcycling mango and pomegranate peel as pectin source: characterization, fat substitute and retarded lipid oxidation in caramel candy. *Discover Food*, 5(1), 37. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00295-9>
- Martínez-Hernández, A., Caamal-Cauch, I., Pat-Fernández, V. G., & Reza-Salgado, J. (2025). Indicadores de competitividad de las exportaciones de mango mexicano en el mercado mundial. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 16(2), e3415. <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i2.3415>
- Martínez-Ramos, T., Benedito-Fort, J., Watson, N. J., Ruiz-López, I. I., Che-Galicia, G., & Corona-Jiménez, E. (2020). Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (*Mangifera indica* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 122, 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.03.011>
- Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments*. John Wiley & Sons.
- Muslu Can, A., Metin Yildirim, R., & Karadag, A. (2024). The Properties of Pectin Extracted from the Residues of Vinegar-Fermented Apple and Apple Pomace. *Fermentation*, 10(11), 556. <https://doi.org/10.3390/fermentation10110556>
- Öztürk, T., Özbek, H. N., & Koçak Yanık, D. (2024). Environmentally friendly approach to pectin extraction from grapefruit peel: Microwave-assisted high-pressure CO₂/H₂O. *Foods*, 13(3), 476. <https://doi.org/10.3390/foods13030476>
- Pacheco-Jiménez, A. A., Basilio Heredia, J., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Quintana-Obregón, E. A., & Muy-Rangel, M. D. (2022). Potencial industrial de la cáscara de mango (*Mangifera indica* L.) para la obtención de pectina en México. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.419>
- Pacheco-Jiménez, A. A., Lizardi-Mendoza, J., Heredia, J. B., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Quintana-Obregón, E. A., & Muy-Rangel, M. D. (2024). Physicochemical characterization of pectin and mango peel (*Mangifera indica* L.) from Mexican cultivars. *Heliyon*, 10(15), e35184. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35184>
- Romdhane, M. B., Haddar, A., Ghazala, I., Jeddou, K. B., Helbert, C. B., & Ellouz-Chaabouni, S. (2017). Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities. *Food Chemistry*, 216, 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.056>
- Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., & Fernández-Bolaños, J. (2015). Pectin extracted from thermally treated olive oil by-products: Characterization, physico-chemical properties, in vitro bile acid and glucose binding. *Food Hydrocolloids*, 43, 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.001>
- Saelee, M., Myo, H., & Khat-Udomkiri, N. (2025). Sustainable pectin extraction from Riang husk using ultrasound-assisted extraction with deep eutectic solvents and its potential in antipollution products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 114, 107256. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2025.107256>
- Saravanan, R., & Jeevitha, G. C. (2024). Sustainable approach for utilization of mango peel wastes for pectin extraction by natural deep eutectic solvents. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2024(1), 4540390. <https://doi.org/10.1155/2024/4540390>
- Sayed, M. A., Kumar, J., Rahman, M. R., Noor, F., & Alam, M. A. (2022). Effect of extraction parameters on the yield and quality of pectin from mango (*Mangifera indica* L.) peels. *Discover Food*, 2(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s44187-022-00029-1>
- Şen, E., Göktürk, E., & Uğuzdoğan, E. (2024). Microwave-assisted extraction of pectin from onion and garlic waste under organic, inorganic and dual acid mixtures. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(5), 3189–3198. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-02395-z>
- Shubhangi, S., Khalid Mehmood, W., Shaik Mahammad, M., Laksmi S, J., & Sneha Soundara, R. (2026). Review on pectin: Sources, properties, health benefits and its applications in food industry. *Journal of Future Foods*, 6(2), 205–219. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.04.009>

- Srikamwang, C., Willats, W. G. T., Bakshani, C. R., Sommano, S. R., & Wongkaew, M. (2024). Potentials of Mahachanok mango peel pectin in modulating glycaemic index in simulated in vitro carbohydrate digestion of meat product. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101304. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101304>
- Stubley, S. J., Cayre, O. J., Murray, B. S., & Torres, I. C. (2023). Emulsifying properties of sugar beet pectin microgels. *Food Hydrocolloids*, 137, 108291. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108291>
- Turan, O., Isci, A., Yilmaz, M. S., Tolun, A., & Sakiyan, O. (2024). Microwave-assisted extraction of pectin from orange peel using deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 37, 101352. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101352>
- Vellaisamy Singaram, A. J., & Ganesan, N. D. (2022). Modeling the influence of extraction parameters on the yield and chemical characteristics of microwave extracted mango (*Mangifera indica* L.) peel pectin by response surface methodology. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 52(6), 711–723. <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1989697>

Actividad antimicrobiana del 3-hidroxi propionaldehído producido por *Limosilactobacillus reuteri* cultivada en caldo MRS sustituyendo la fuente de carbono

Antimicrobial activity of 3-hydroxypropionaldehyde produced by *Limosilactobacillus reuteri* cultivated in MRS broth replacing the carbon source

Menéndez García O. F.¹, García Zamarrón D. A.¹, Hernández Barrientos R.¹, Báez González J. G.², Morales-Landa J. L.³, Luiz Santos N.³, Escamilla García E.^{1*}.

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología. Av. Manuel Barragán, Ciudad Universitaria, 66455 San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. oscar.menindezg@uanl.edu.mx; diego.garciaz@uanl.edu.mx; rodrigo.hernandezbr@uanl.edu.mx

*Correspondencia: erandi.escamillagrc@uanl.edu.mx

² Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos. Pedro de Alba SN, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, 66450 San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. juan.baezgn@uanl.edu.mx

³ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Subsede Noreste. Autopista Mty-Aeropuerto, Vía de la Innovación 404, Parque PIIT, 66628 Ciudad Apodaca, Nuevo León, México. jmorales@ciatej.mx; nsantos@ciatej.mx

Resumen:

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la celobiosa al 1% como fuente principal de carbono en un cultivo MRS de *Limosilactobacillus reuteri*, formulado para la biotransformación de glicerol a 3-hidroxi propionaldehído, un agente antimicrobiano de amplio espectro. Se utilizó *Escherichia coli* O157:H7 como organismo modelo para evaluar el efecto de la inhibición bacteriana. Un segundo caldo MRS formulado con 1% de glucosa y un caldo MRS comercial estándar fueron utilizados como comparativos. El 3-HPA utilizado fue producido durante la fase exponencial de crecimiento (2 a 12 horas) de cada cultivo MRS. El 3-HPA producido en los medios con celobiosa y MRS comercial inhibió $45.01 \pm 18.51\%$ y un $35.94 \pm 7.76\%$ ($p > 0.05$) respectivamente el crecimiento de *E. coli*, mientras que un $8.50 \pm 0.37\%$ de inhibición con el 3-HPA producido en cultivo MRS con glucosa. Como agente antiséptico de control, se utilizó la clorhexidina al 0.12%, arrojando un $97.61 \pm 0.05\%$ de inhibición. Se concluye que la fuente de carbono inicial modifica el potencial antimicrobiano del 3-HPA, siendo la celobiosa un sustrato candidato para continuar su estudio en la optimización de la secreción de metabolitos activos, lo que resalta su importancia en el desarrollo de alternativas para el control microbiano y la economía circular.

Palabras clave: *Limosilactobacillus reuteri*, 3-hidroxi propionaldehído, actividad antimicrobiana, caldo MRS-Celobiosa, caldo MRS-Glucosa.

ABSTRACT:

The aim of this study was to determine the effect of 1% cellobiose as the main carbon source in an MRS culture of *Limosilactobacillus reuteri*, formulated for the biotransformation of glycerol to 3-hydroxypropanal, a broad-spectrum antimicrobial agent. *Escherichia coli* O157:H7 was used as a model organism to evaluate the effect of bacterial inhibition. A second MRS broth formulated with 1% glucose and a standard commercial MRS broth were used as comparatives. The 3-HPA used was produced during the exponential growth phase (2 to 12 hours) of each MRS culture. The 3-HPA produced in the media with cellobiose, and the commercial MRS broth inhibited $45.01 \pm 18.51\%$ and $35.94 \pm 7.76\%$ ($p > 0.05$) respectively of *E. coli* growth, while $8.50 \pm 0.37\%$ inhibition occurred with the 3-HPA produced in MRS culture with glucose. As a control antiseptic agent, 0.12% chlorhexidine was used, showing $97.61 \pm 0.05\%$ inhibition. It is concluded that the initial carbon source modulates the antimicrobial potential of 3-HPA, with cellobiose as a candidate substrate for further study to optimise active metabolite secretion, highlighting its importance in the development of alternatives for microbial control and the circular economy.

Keywords: *Limosilactobacillus reuteri*, 3-Hydroxypropionaldehyde, Antimicrobial activity, MRS broth-Cellobiose, MRS broth-Glucose.

INTRODUCCIÓN

Limosilactobacillus reuteri (antes denominada *Lactobacillus reuteri*) es una bacteria ácido-láctica heterofermentativa grampositiva que coloniza de forma natural el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Como resultado de la revisión taxonómica del género *Lactobacillus*, basada en análisis filogenómicos, genómicos, fisiológicos y ecológicos, la especie fue reclasificada como *Limosilactobacillus reuteri* (Zheng et al., 2020). Esta bacteria presenta morfología bacilar y crecimiento en condiciones microaerofílicas, características asociadas con su adaptación y persistencia en ambientes gastrointestinales y con su potencial de aplicación en la industria alimentaria (Ali et al., 2023; Mu et al., 2018). *L. reuteri* posee la capacidad para utilizar diferentes carbohidratos, cuya disponibilidad y naturaleza pueden modificar su crecimiento y metabolismo. Estudios recientes han evidenciado la capacidad metabólica de *L. reuteri* para asimilar y degradar una gran variedad de carbohidratos, incluidos monosacáridos como la glucosa, y disacáridos como la celobiosa, con diferencias en la estimulación del crecimiento, y también en la producción de metabolitos según el sustrato empleado (Morales-Landa et al., 2025; Napoleon, 2019). Como bacteria heterofermentativa, *L. reuteri* metaboliza los carbohidratos principalmente mediante la vía de la fosfocetolasa, generando lactato, acetato, etanol y CO₂, entre otros productos de fermentación. Entre los metabolitos de interés producidos por *L. reuteri* destaca el 3-hidroxipropionaldehído (3-HPA) comúnmente conocido como reuterina. Este compuesto se genera a partir del glicerol mediante la acción de la glicerol deshidratasa (GDHt) a 3-HPA, una enzima dependiente de coenzima B₁₂. La conversión de glicerol a 3-HPA constituye una ruta metabólica relevante en *L. reuteri* y se asocia con el sistema de utilización de glicerol codificado por el agrupamiento de genes *pdu* (Talarico et al., 1988; Schaefer et al., 2010). Al ser excretada de la célula, el 3-HPA se encuentra en solución acuosa formando un sistema dinámico constituido principalmente por su forma libre, su forma hidratada y su dímero, y puede experimentar deshidratación espontánea para generar acroleína (Sun et al., 2022). Esta característica debe considerarse al estudiar la actividad biológica atribuida al denominado sistema reuterina.

La reuterina presenta actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a diversos microorganismos, su acción se ha relacionado con la elevada reactividad del grupo aldehído del 3-HPA hacia grupos tiol presentes en glutatión, proteínas y otras moléculas celulares, lo que altera el equilibrio redox y genera estrés oxidativo en las células susceptibles (Schaefer et al., 2010; Sun et al., 2022). En este sentido, *L. reuteri* ha demostrado capacidad para inhibir diversos patógenos entéricos incluyendo *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y otros microorganismos de importancia para la inocuidad alimentaria y la salud pública (Spinler et al., 2008; Urrutia-Baca et al., 2016; Ali et al., 2023). Sin embargo, la actividad antimicrobiana de los cultivos de *L. reuteri* no es dependiente de la concentración de reuterina. Se ha observado que la cantidad de reuterina producida por diferentes cepas, no siempre se correlaciona con la capacidad inhibitoria, lo que sugiere la posible participación de otros metabolitos antimicrobianos y efectos sinérgicos (Spinler et al., 2008).

En este contexto, la fuente de carbono disponible durante el crecimiento constituye un factor relevante para modular el metabolismo de *L. reuteri* y, potencialmente, el perfil de metabolitos antimicrobianos producido. La glucosa y celobiosa presentan diferencias estructurales (**Fig. 1**) y fisicoquímicas que pueden influir en su disponibilidad, transporte y utilización metabólica en los microorganismos (**Tabla I**). Mientras que la glucosa es un monosacárido (**Fig. 1A**) que puede incorporarse directamente al metabolismo central, la celobiosa es un disacárido constituido por dos unidades de glucosa unidas mediante un enlace β -(1 $\rightarrow$ 4), (**Fig. 1B**), por lo que su aprovechamiento requiere de etapas adicionales de transporte y/o hidrólisis (Nishimura et al., 2014).

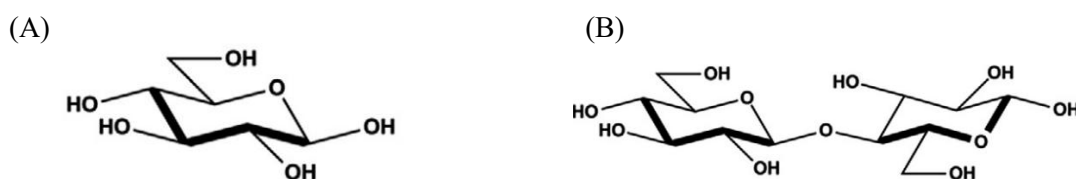


Figura 1. Estructura química de la glucosa-monosacárido (A) y de la celobiosa-disacárido (B). Fuente elaboración propia a partir de Ries et al., (2014) y National Center for Biotechnology Information (NCBI 2026a; NCBI 2026b). PubChem Compound.

Además de su interés como fuente de carbono, la celobiosa puede obtenerse mediante la hidrólisis enzimática o química de materiales lignocelulósicos, en los que la celulosa constituye uno de los principales componentes estructurales. De ahí que su utilización en procesos fermentativos represente una alternativa potencial para valorizar recursos renovables y subproductos agroindustriales, particularmente cuando estos materiales se integran en esquemas de fraccionamiento y aprovechamiento de biomasa.

Tabla I. Propiedades fisicoquímicas generales de la glucosa y de la celobiosa.

PROPIEDAD FISICOQUÍMICA	GLUCOSA	CELOBIOSA
Peso Molecular	180.16 g/mol ^d	342.30 g/mol ^e
Carga	Neutra ^d	Neutra ^e
ΔG (kcal/mol)	-686 ^b	5.276 ^e
T (°C)	150 ^a	236.85 ^a
Tipo de enlace glicosídico	-	β -(1→4)

^aHeng et al. (2021); ^bCooper (2000); ^cZhang et al. (2014); ^{d,e}National Center for Biotechnology Information (2026).

Por lo anterior, en este trabajo se evaluó el efecto de la sustitución de glucosa por celobiosa como fuente de carbono sobre la producción de 3-HPA y la actividad antimicrobiana de los sobrenadantes obtenidos durante el crecimiento de *Limosilactobacillus reuteri* ATCC 55730, utilizando *Escherichia coli* O157:H7 como microorganismo indicador. Asimismo, se comparó el comportamiento de la cepa cultivada en un medio formulado con 1% de celobiosa con un medio formulado con 1% de glucosa y con medio MRS comercial, con el propósito de determinar si la fuente de carbono empleada durante el cultivo modifica el potencial antimicrobiano de los metabolitos producidos por la bacteria.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio presentado fue experimental, con ensayos *in vitro*, y comprendió tres cultivos de *L. reuteri* ATCC 55730TM en caldo comercial Man Rogosa and Sharpe (MRS, BD-Difco, Becton Dickinson & Co, Francia), con cuatro réplicas por cultivo. A partir de caldo MRS sin dextrosa (Condalab® 1225, Madrid-España, cumple con normas ISO 9001:2015 e ISO 13485:2016 relativas a la gestión de calidad y a dispositivos médicos), se formuló un caldo de cultivo reemplazando el 2% de glucosa del medio comercial por 1% de D-(+)-celobiosa (22150, Millipore Merk, Sigma Aldrich, Missouri-EUA) como principal fuente de carbono y medio de interés en este estudio. El segundo medio se formuló con 1% de glucosa (glucosa anhidra USP, CTR Scientific 132171, México), como medio comparativo y, para el tercer medio de cultivo, se utilizó el medio comercial como referencia.

Conservación y Activación de *Limosilactobacillus reuteri*

Los procedimientos experimentales comprendieron la activación de *L. reuteri* y el precultivo, realizados de acuerdo con las recomendaciones de la ficha técnica de la American Type Culture Collection (ATCC®) y considerando un estudio realizado con anterioridad (Baca-Castañón et al., 2015). A partir de un vial con *L. reuteri* preservado en una solución criogénica salina con glicerol al 30% (Glicerina RA CTR Scientific 02856, México), se tomó una muestra de 100 μ L para activarla en 30 mL de caldo MRS contenido en un tubo de centrifugación cónico estéril de 50 mL (Corning® Science Mexico S.A de C.V., 430828, Tamaulipas-México), para incubarse por 24 h a 37 °C (VWR Model 2300 / Shel Lab Sheldon 9150931 CO₂, EUA). Transcurrido este tiempo, se recuperó el paquete celular o pellet por centrifugación a 4000 x g, por 5 min a 20 °C, considerando dos lavados con solución estéril de buffer salino de fosfatos PBS-1X (Mediatech, Inc, Virginia-EUA). El paquete celular resultante, fue utilizado para sembrar cajas Petri con agar MRS para subsecuentes activaciones en los ensayos del estudio. Por otra parte, los ensayos para el establecimiento de la cinética de crecimiento se

consideraron con base en el trabajo previo de Baca-Castañón et al. (2015). Matraces Erlenmeyer de 500 mL (Pyrex®, Alemania) fueron utilizados con un volumen de trabajo (caldos MRS) de 210 mL, previamente esterilizados 15 min a 121 °C (Autoclave AllAmerican No 50X, Wisconsin-EUA), para su inoculación a una Densidad Óptica_{600nm}=0.2 en la escala de McFarland ajustada con un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Evolution, One Plus 840-341500, China), equivalente a 2.05×10^8 células/mL e incubados para su crecimiento a 37 °C en atmósfera anaerobia (System GasPak® BD Dickinson, Francia) durante 24 h.

Obtención de muestras de 3-hidroxipropionaldehído (3-HPA)

Entre tanto (durante 24 h), cada 2 h se tomó una muestra de los cultivos de cada matraz para realizar el procedimiento de aislamiento y cuantificación de 3-HPA (Urrutia-Baca et al., 2018). Las células de *L. reuteri* fueron separadas del sobrenadante (el cual se reservó) por centrifugación (Centrífuga I, PRO-RESEARCH.K1241R CENTURION SCIENTIFIC, Reino Unido) a 4000 x g, por 5 min a 20 °C. El sedimento bacteriano fue lavado dos veces (2X) con solución PBS-1X, resuspendido en glicerol 250 mM e incubado durante 2 a 4 h en las mismas condiciones de cultivo, para estimular la bioconversión a 3-HPA descrita por Urrutia-Baca et al. (2018).

Por centrifugación se recuperaron los sobrenadantes a $8000 \times g$, 10 min a 20 °C, mismos que fueron acondicionados junto con el sobrenadante antes reservado, para evaluar la presencia de 3-HPA contenido en ambas muestras, se utilizó acroleína (Sigma-Aldrich, New Jersey-EUA) como estándar de calibración, mediante un método colorimétrico (Circle et al., 1945), a una longitud de onda de 560 nm por espectrofotometría (Urrutia-Baca et al., 2018). Se utilizaron celdas desechables de 1.5 mL (semi-micro PMMA 759085D, Brand, ISO 9001-14001, Alemania). Las curvas de crecimiento y la evaluación de parámetros cinéticos corresponden a otro estudio en curso. Todas las muestras de 3-HPA se conservaron al abrigo de la luz y en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

Activación y curva de crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7

Para los ensayos de actividad antimicrobiana, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC BAA-1883™ fue activada de acuerdo con la ficha técnica de la ATCC® en caldo Tripticaseína de Soya (TS, MCD LAB, Oaxaca-México), a 37 °C por 24 h, a partir de un cultivo en agar TS en caja de Petri. Los medios de cultivo siguen la norma NOM-241-SSA1-2025 y cuentan con certificación ISO 9001:2015. Para conocer el punto logarítmico de crecimiento de *E. coli* (punto de mayor patogenicidad) se realizó una curva de crecimiento con un inóculo de inicio de $DO_{600nm} = 0.1$ en la escala de McFarland en un matraz de 125 mL y un volumen de trabajo de 50 mL de caldo TS. Transcurrido el tiempo, el sedimento o paquete bacteriano fue recuperado por centrifugación a 4000 rpm durante 5 min a 20-25 °C, para posteriormente lavarse (2X) con PBS-1X y ser resuspendido para ajustar la densidad celular a 0.1 en la escala de McFarland mediante la fórmula de concentraciones y diluciones $C_1V_1 = C_2V_2$, como preámbulo al procedimiento de los ensayos de actividad antimicrobiana. La cinética de crecimiento se realizó por triplicado, se tomaron 3 mL de muestra cada 20 min desde el momento de la inoculación (tiempo 0 h). Las muestras fueron utilizadas para medir el pH (Denver Instruments, UltraBasic Benchtop Meter UB-10, Arvada/CO-EUA) y la Densidad Óptica a una longitud de onda de 600 nm.

Determinación de la actividad antimicrobiana del 3-HPA

El ensayo de microdilución en placa es un método cuantitativo que permite determinar la cantidad necesaria de una sustancia o molécula para inhibir el crecimiento de un microorganismo (Andrews, 2001), este ensayo se realizó tomando como base el estudio realizado por Escamilla-García et al. (2017). Se requirió de placas estériles de 96 pozos de fondo plano y claro (Poliestireno, Corning® Incorporated Costar 3599, Maine-EUA) considerando un volumen final de trabajo de 200 µL. El volumen compuesto por 20 µL del 3-HPA producido en los tiempos de la fase exponencial de crecimiento de *L. reuteri* (2, 4, 6, 8, 10, 12 h) de cada medio de cultivo MRS (1.4-1.5 mg/mL en el medio formulado con 1% de celobiosa; 1.5-1.75 mg/mL en el medio formulado con 1% de glucosa y de 1.3-2.0 mg/mL en el medio de referencia), caldo TS estéril y 1% de *E. coli* en el punto máximo logarítmico de crecimiento. El 3-HPA como referencia, la lectura a 600 nm en el espectrofotómetro. Los ensayos se realizaron en placas independientes, por duplicado, identificadas por el medio de cultivo MRS de procedencia. En todas las placas se consideraron controles de crecimiento de *E. coli* y de reacción con el

medio de cultivo, así como un control positivo de clorhexidina al 0.12% (Perioxidin® Lacer S.A., Barcelona-España), como agente antiséptico de referencia. Los ensayos en placa fueron incubados a 37 °C durante 18-24 horas; transcurrido este tiempo, se midió la absorbancia a 600 nm en un lector de placas de ELISA (Biotek Synergy 2, 254499, EUA). El resultado de la actividad antimicrobiana del 3-HPA se expresa como porcentaje de inhibición del crecimiento de *E. coli*. Los ensayos de microdilución en placa se realizaron por duplicado; los resultados se presentan como valor promedio y desviación estándar expresados en porcentaje de inhibición de *E. coli* con 3-HPA.

El material, los medios de cultivo y las soluciones fueron esterilizados previamente a 120 °C durante 15 min. Todos los ensayos se realizaron en una cabina de bioseguridad clase II (Purifier Logic Labconco A2, modelo 3620804, Missouri-EUA), desinfectada con alcohol al 70% (Alcohol desnaturalizado al 96%, CTR Scientific 14468, México) y expuesta a la luz UV durante 15 minutos.

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto del tiempo de fermentación (2, 4, 6, 8, 10 y 12 h) y del medio de cultivo (MRS comercial, MRS suplementado con 1% de glucosa y MRS suplementado con 1% de celobiosa) sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento de *E. coli* O157:H7, se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado. Se evaluaron tres medios de cultivo y seis tiempos de fermentación, con tres réplicas por combinación de factores, para un total de 54 experimentos.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, considerando como factores el medio de cultivo, el tiempo de fermentación y su interacción. Cuando se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$), las medias se compararon mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel de significancia del 5%. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Statgraphics Centurion XVI.I (Virginia-EUA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curva de crecimiento de *E. coli* O157:H7

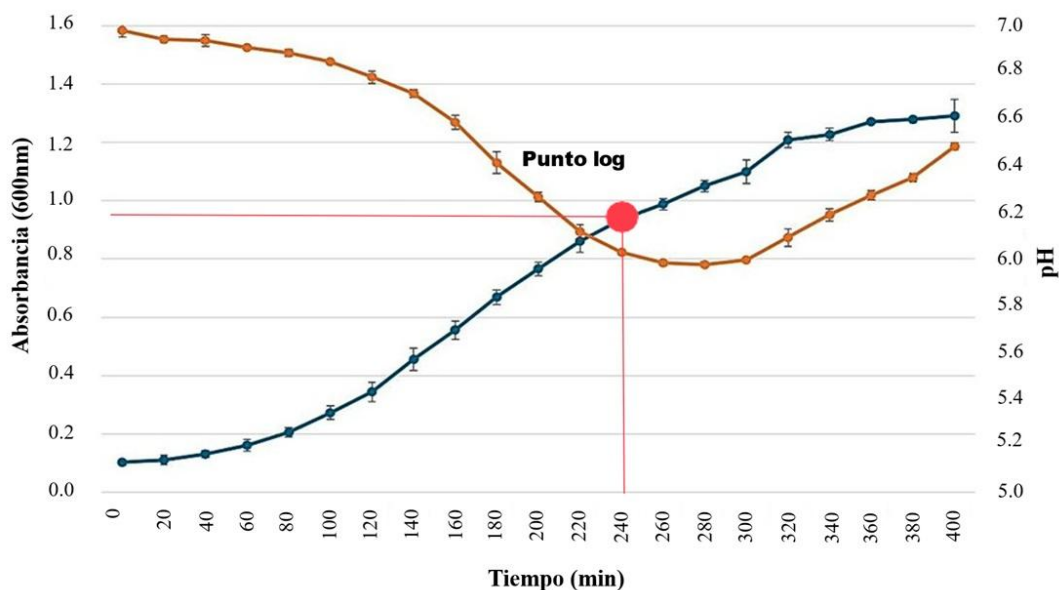


Figura 2. Curva de crecimiento de *E. coli* O157:H7 (●) y variación de pH (●). Identificación del punto logarítmico de crecimiento (●) en 240 minutos con una Ab_{600nm} de $0.936 (\pm 0.030)$. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se expresan como media $\pm$ desviación estándar (DE).

En la **Fig. 2** se muestra la cinética de crecimiento establecida para la bacteria patógena *E. coli* utilizada en este estudio como un referente de contaminación en alimentos y al origen de enfermedades gastrointestinales como

consecuencia. Se puede observar una fase de adaptación al medio de cultivo de entre 40-60 min, y posterior inicio de un crecimiento exponencial para alcanzar su máximo punto logarítmico de crecimiento transcurridos 240 min (4 h). Posterior a este punto, la bacteria continuó con un crecimiento con menor aceleración hasta los 400 min (6.4 h). Con lo que al pH respecta se observa claramente un comportamiento inversamente proporcional, hasta los 260 minutos. Posterior a este tiempo, el pH incrementa en paralelo al comportamiento de la curva de crecimiento. Ambos comportamientos de incremento bacteriano y en el pH puede tener su origen a las sustancias producidas durante el metabolismo de *E. coli* que la misma bacteria utiliza como alimento para sobrevivir. Finalmente, se obtuvo el tiempo de duplicación a 77.86 min (1.29 h) y la velocidad específica de crecimiento $\mu = 0.0089 \text{ h}^{-1}$.

Producción de 3-HPA y actividad antimicrobiana de los sobrenadantes de *L. reuteri* ATCC 55730 sobre *E. coli* O157:H7

Las concentraciones máximas de 3-HPA detectadas en los sobrenadantes de los tres medios de cultivo evaluados variaron en función del medio y del tiempo de crecimiento. En el medio MRS suplementado con 1% de celobiosa, la concentración máxima de 3-HPA fue de $1.50 \pm 0.07 \text{ mg/mL}$ a las 6 h de crecimiento. En el medio MRS suplementado con 1% de glucosa, se obtuvo una concentración máxima de $1.75 \pm 0.02 \text{ mg/mL}$ a las 8 h, mientras que en el MRS comercial se alcanzó la mayor concentración entre los tratamientos, con $2.00 \pm 0.25 \text{ mg/mL}$ a las 8 h. En el sedimento o paquete bacteriano de *L. reuteri*, la escasa concentración de 3-HPA detectada no registró actividad antimicrobiana alguna (datos no mostrados).

La actividad antimicrobiana de los sobrenadantes obtenidos durante la fase exponencial de crecimiento de *L. reuteri* dependió tanto del medio de cultivo como del tiempo de fermentación (**Fig. 3**). En el medio MRS suplementado con 1% de celobiosa (**Fig. 3A**), el mayor porcentaje de inhibición se observó a las 8 h ($45.01 \pm 18.51\%$), siendo significativamente superior al registrado a las 12 h ($p < 0.05$). Los tiempos de 2, 4, 6 y 10 h presentaron valores intermedios y compartieron grupos estadísticos con ambos extremos. En el medio MRS suplementado con 1% de glucosa (**Fig. 3B**), los porcentajes de inhibición permanecieron bajos durante todo el periodo evaluado ($3.47\text{--}12.22\%$), sin detectarse diferencias significativas entre los tiempos de fermentación ($p > 0.05$).

Por su parte, el sobrenadante obtenido en el medio MRS comercial (**Fig. 3C**) presentó su mayor actividad inhibitoria a las 6 h ($35.94 \pm 7.76\%$), la cual fue significativamente superior a la observada en los tiempos de 4, 10 y 12 h ($p < 0.05$), mientras que los tiempos de 2 y 8 h mostraron valores intermedios. La clorhexidina al 0.12%, como agente antimicrobiano de referencia (control positivo), inhibió el crecimiento de *E. coli* en un $97.61 \pm 0.05\%$ (**Fig. 3-D**), mostrando una actividad inhibitoria mayor que la observada para cualquiera de los sobrenadantes evaluados. La diferencia de inhibición de los sobrenadantes con respecto a la CHX se observa en la **Tabla II**.

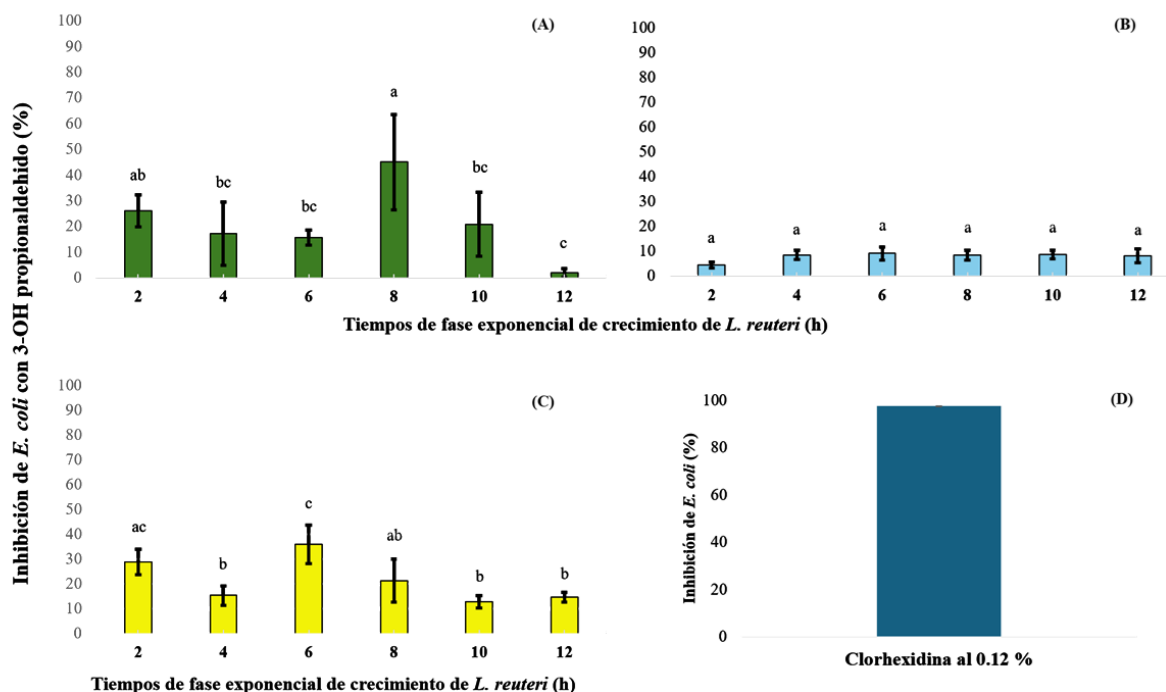


Figura 3. Representación gráfica del porcentaje de inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 expuesta al sobrenadante de *Limosilactobacillus reuteri* con 3-hidroxipropionaldehído (3-HPA) y a la Clorhexidina, utilizada como control positivo de actividad antimicrobiana, en los tiempos de la fase exponencial (2, 4, 6, 8, 10 y 12 h). Los cultivos de *L. reuteri* se cultivaron en caldo MRS formulado con 1% de celobiosa (A), 1% de glucosa (B), en MRS de referencia (C) y, como control positivo (D), en Clorhexidina al 0,12% (Perioxidin® Lacer S.A., Barcelona-España).

Es importante destacar que la mayor actividad antimicrobiana no coincidió con la mayor concentración de 3-HPA detectada en los sobrenadantes. Mientras que el medio MRS comercial presentó la concentración máxima de 3-HPA (2.0 ± 0.25 mg/mL), el mayor porcentaje de inhibición se observó en el sobrenadante obtenido con 1% de celobiosa. Asimismo, en el medio MRS comercial la máxima actividad inhibitoria se registró a las 6 h, mientras que la mayor concentración de 3-HPA se detectó a las 8 h. Estos resultados sugieren que la actividad antimicrobiana observada no depende exclusivamente de la concentración de 3-HPA, sino que podría estar influenciada por la presencia de otros metabolitos extracelulares producidos durante el crecimiento de *L. reuteri*.

Tabla II. Diferencia de inhibición (expresada en porcentaje) de la bacteria *E. coli* expuesta a la clorhexidina al 0.12%, con respecto al efecto inhibitorio de 3-HPA, acumulado en los sobrenadantes de los cultivos MRS de *L. reuteri*.

Cultivo MRS de <i>L. reuteri</i>	Diferencia en la inhibición de <i>E. coli</i> de la CHX ¹ versus el 3-HPA	Tiempo de comparación en la fase exponencial (h)
MRS formulado con 1% de celobiosa	52.60 %	8
MRS formulado con 1% de glucosa	89.11 %	4-12
MRS de referencia (BD Difco)	61.67 %	6

¹CHX: clorhexidina al 0.12%

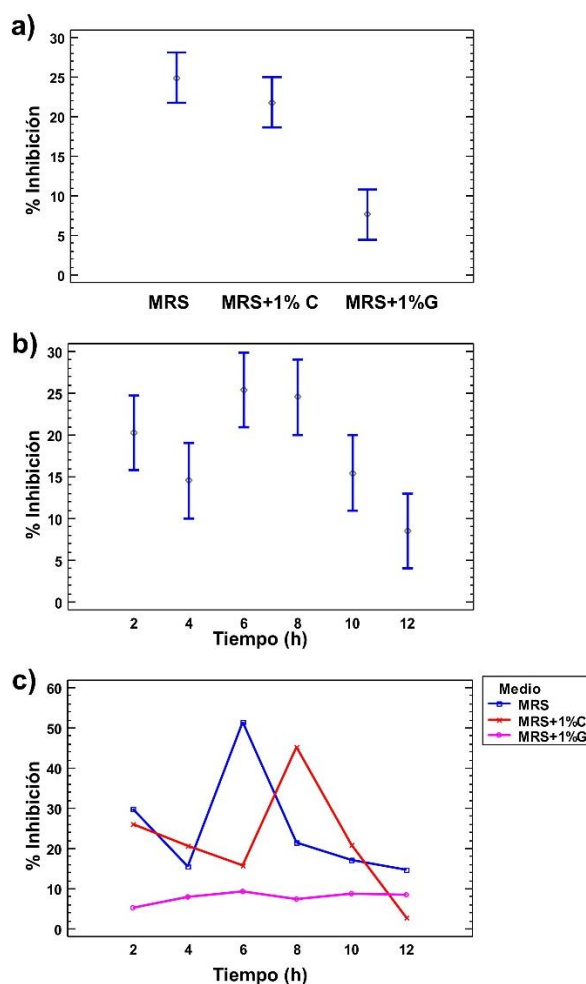


Figura 4. Análisis de varianza y LSD para (a) Medio utilizado, (b) tiempo y (c) gráfico de interacción sobre el porcentaje de inhibición de *Escherichia coli* O157:H7.

El análisis de varianza (**Fig. 4**) mostró que el medio de cultivo, el tiempo de fermentación y la interacción entre ambos factores tuvieron un efecto significativo sobre el porcentaje de inhibición de *E. coli* ($p < 0.05$). El análisis de comparaciones múltiples indicó que los sobrenadantes obtenidos en el medio MRS comercial y en el medio MRS suplementado con 1% de celobiosa presentaron porcentajes de inhibición significativamente mayores que aquellos obtenidos en el medio MRS suplementado con 1% de glucosa (**Fig. 4A**). Asimismo, el efecto del tiempo dependió del medio de cultivo, observándose diferencias significativas únicamente en los tratamientos con MRS comercial y MRS suplementado con 1% de celobiosa (**Fig. 3**).

De acuerdo con el ANOVA, no se observaron diferencias significativas entre el % de inhibición al utilizar MRS o MRS+1% de celobiosa, en donde ambos presentaron una diferencia significativa mayor que al utilizar medio MRS+1% de glucosa (**Fig. 4a**). Por su parte, los tiempos de 6 y 8 h presentaron una actividad inhibitoria significativamente mayor respecto a 12 h (**Fig. 4b**). Por otro lado, los tiempos de 4, 10 y 2 h mostraron valores intermedios, compartiendo grupos estadísticos con algunos de los demás tratamientos, lo que indica un comportamiento parcialmente similar entre ellos (**Fig. 4c**).

La actividad inhibitoria del 3-HPA producido en el medio MRS formulado con 1% de celobiosa fue ligeramente superior al generado en el medio MRS comercial, posiblemente debido a la represión catabólica por carbono descrita en el trabajo de Napoleon (2019), en la que la glucosa presente en el medio tradicional de crecimiento de *L. reuteri* mantiene activa la expresión de la secuencia del elemento de represión catabólica (CRE), regulando negativamente la actividad del operón *pdu*, responsable de la conversión de glicerol a 3-HPA. Otra posible explicación de este fenómeno se basa en el enlace β -(1 $\rightarrow$ 4) presente en la estructura de la celobiosa; en el estudio de Zeng et al. (2024), observaron que el crecimiento de ciertas especies de bacterias ácido-lácticas variaba según

la única fuente de carbono disponible en el medio. Y aunque en sus resultados *L. reuteri* no se encontraba entre aquellas especies que mostraron una mejora en su crecimiento cuando únicamente se encontraba la celobiosa como fuente de carbono en el medio, sí sugirieron que aquellas especies que sí se beneficiaron de esta la preferirían por la facilidad de romper este enlace al momento de metabolizarla. Además, en los estudios de Li et al. (2023), se observó que la suplementación con celobiosa en el medio de cultivo tradicional de *L. reuteri* mejoró su crecimiento, lo que podría sugerir que, en combinación con 2 fuentes de carbono, se traduciría en un incremento en el rendimiento del 3-HPA o en la estabilidad de su actividad.

El 3-HPA producido en el medio MRS formulado con 1% de glucosa presentó una actividad menor que en los otros 2 medios, posiblemente a causa de la represión catabólica por carbono (CRR), pero a una escala mucho mayor al existir únicamente glucosa como fuente de carbono, pero en una proporción menor a la que normalmente se cultiva *L. reuteri* en el medio MRS convencional que contiene 2 % de glucosa en su formulación. Existen otros estudios como el de Ko et al. (2024), donde también hacen uso del medio MRS comercial de otra marca y también con un contenido de 2% de glucosa (Difco, Detroit, MI, EE. UU.). La actividad de inhibición del 3-HPA producido en el medio MRS de referencia (BD, Becton, Dickinson and Company, Francia), sobre el crecimiento de *Escherichia coli*, concuerda con los resultados de Al-Nabulsi et al. (2021) en los que su crecimiento se vio inhibido al momento de cultivarlo en presencia de la molécula. Sus porcentajes de inhibición fueron ligeramente inferiores a los observados en el medio formulado con 1% de celobiosa. Esto podría explicarse igualmente por la represión catabólica del carbono (CRR) mencionada en el trabajo de Napoleon (2019).

Se observó una alta actividad antimicrobiana en el crecimiento de *E. coli* ejercida por la clorhexidina con un porcentaje del 97.61%; Baca-Castañón et al. (2015) describieron este comportamiento en el que la clorhexidina logró inhibir eficientemente el crecimiento de distintas bacterias odontopatógenas al ser empleada como un agente antiséptico en el área odontológica.

Dado que el 3-HPA es secretado por *L. reuteri* según lo establecido por Sun et al. (2022), es coherente y esperable no haber observado actividad antimicrobiana al exponer al patógeno al sobrenadante del sedimento o al paquete bacteriano procesado de *L. reuteri*, puesto que una gran proporción del agente antimicrobiano que produjeron terminó siendo secretada en el sobrenadante.

CONCLUSIONES

La sustitución de la glucosa por celobiosa como fuente de carbono modificó la actividad antimicrobiana del 3-HPA acumulado en el sobrenadante producido por *Limosilactobacillus reuteri* ATCC 55730, frente a *Escherichia coli* O157:H7. Aunque la mayor concentración de 3-HPA se obtuvo en el medio MRS comercial, el sobrenadante procedente del medio formulado con 1% de celobiosa presentó el mayor porcentaje de inhibición bacteriana.

La falta de correspondencia entre la concentración máxima de 3-HPA y la máxima actividad antimicrobiana indica que el efecto inhibitorio del sobrenadante no puede atribuirse exclusivamente a este metabolito, lo que sugiere la participación de otros compuestos extracelulares generados durante la fermentación. En consecuencia, la actividad biológica del sobrenadante depende del perfil metabólico inducido por la fuente de carbono más que de la concentración de un único compuesto.

Desde una perspectiva biotecnológica, la celobiosa representa una fuente de carbono de interés para el desarrollo de procesos fermentativos sostenibles, ya que puede obtenerse a partir de residuos lignocelulósicos y generar sobrenadantes con elevada actividad antimicrobiana. Estos resultados respaldan su potencial aplicación en estrategias de valorización de subproductos agroindustriales como parte de los principios de la economía circular, y constituyen una base para futuros estudios dirigidos a caracterizar los metabolitos responsables de la actividad inhibitoria observada, así como al desarrollo de procesos biotecnológicos más sostenibles.

BIBLIOGRAFÍA

Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Oqdeh, S. B., Olaimat, A. N., Jaradat, Z. W., Ayyash, M., & Holley, R. A. (2021). Antagonistic effects of *Lactobacillus reuteri* against *Escherichia coli* O157:H7 in white-

- brined cheese under different storage conditions. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 2719–2734. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19308>
- Ali, M. S., Lee, E. B., Lim, S. K., Suk, K., & Park, S. C. (2023). Isolation and identification of *Limosilactobacillus reuteri* PSC102 and evaluation of its potential probiotic, antioxidant, and antibacterial properties. *Antioxidants*, 12(2), 238. <https://doi.org/10.3390/antiox12020238>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 48 Suppl 1, 5–16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
- Baca-Castañón, M. L., De la Garza-Ramos, M. A., Alcázar-Pizaña, A. G., Grondin, Y., Coronado-Mendoza, A., Sánchez-Najera, R. I., Cárdenas-Estrada, E., Medina-De la Garza, C. E., & Escamilla-García, E. (2015). Antimicrobial effect of *Lactobacillus reuteri* on cariogenic bacteria *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, and periodontal diseases *Actinomyces naeslundii* and *Tannerella forsythia*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12602-014-9178-y>
- Circle, S. J., Stone, L., & Boruff, C. S. (1945). Acrolein determination by means of tryptophane. A colorimetric micromethod. *Ind Eng Chem Anal Ed* 17(4):259–262. <https://doi.org/10.1021/i560140a021>
- Cooper, G. M. (2000). *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates, *Metabolic Energy*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9903/>
- Deutscher, J. (2008). The mechanisms of carbon catabolite repression in bacteria. *Current Opinion In Microbiology*, 11(2), 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.02.007>
- Escherichia coli* O157:H7. American Type Culture Collection: The Global Bioresource Center. <https://www.atcc.org/products/baa-1883>
- Escamilla-García, E., Alcázar-Pizaña, A. G., Segoviano-Ramírez, J. C., Del Angel-Mosqueda, C., López-Lozano, A. P., Cárdenas-Estrada, E., De La Garza-Ramos, M. A., Medina-De La Garza, C. E., & Márquez, M. (2017). Antimicrobial activity of a cationic guanidine compound against two pathogenic oral Bacteria. *International Journal of Microbiology*, 2017, 5924717. <https://doi.org/10.1155/2017/5924717>
- Heng, J., Zhang, Z., Proctor, E., Tyufekchiev, M., Deskins, N. A., & Timko, M. T. (2021). Cellobiose as a model carbohydrate for predicting solubilities in nonaqueous solvents. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 60(4), 1859-1871. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c04963>
- Ko, H. I., Hae-Il, Y., So-Rim, K., Chae-Rim, J., Jong-Bang, E., & Tae-Woon K. (2024). Development a modified MRS medium for enhanced growth of psychrotrophic lactic acid bacteria isolated from kimchi. *LWT Food Sciences and Technology*, 210(116815), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116815>.
- Lactobacillus reuteri* ATCC® 55730. American Type Culture Collection: The Global Bioresource Center. <https://www.atcc.org/products/baa-3352>
- Li, M., Wang, Y., Guo, C., Wang, S., Zheng, L., Bu, Y., & Ding, K. (2023). The claim of primacy of human gut *Bacteroides ovatus* in dietary cellobiose degradation. *Gut Microbes*, 15(1), 2227434. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2227434>
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H., & Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 66(3), 506–577. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002>
- Morales-Landa, J. L., Lazcano-Díaz, E., Escamilla-García, E., Pérez-De la Rosa, A. G., & Luiz-Santos, N. (2025). Comparative study of L/D lactic acid production in cultures of probiotic strains supplemented with carbohydrates from agave and other agroindustrial resources. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 9. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1613809>
- Mu, Q., Tavella, V. J., & Luo, X. M. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in Microbiology*, 9, 757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757>

- Napolean, C. L. J. (2019). A study of antimicrobial effects of reuterin by *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 on *Escherichia coli* [Master's thesis]. Faculty of Engineering LTH, Lund University.
<https://lup.lub.lu.se/luur/download?func=downloadFile&recordId=8996582&fileId=8996691>
- National Center for Biotechnology Information (2026a). PubChem Compound Summary for CID 5793, D-Glucose. Retrieved April 23, 2026 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-Glucose>.
- National Center for Biotechnology Information (2026b). PubChem Compound Summary for CID 439178, Cellobiose. Retrieved April 23, 2026 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cellobiose>.
- Nishimura, Y., Yokogawa, D., & Irle, S. (2014). Theoretical study of cellobiose hydrolysis to glucose in ionic liquids. *Chemical Physics Letters*, 603, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2014.04.014>
- Norma ISO 9001:2015. Sistema de Gestión de Calidad – Requisitos. Organización Internacional de Normalización (ISO). <https://www.iso.org/es/contents/data/standard/06/20/62085.html>
- Norma ISO 1348:2016. Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes. The International Organization for Standardization (ISO).
<https://www.iso.org/standard/59752.html>
- Ries, M. E., Radhi, A., Keating, A. S., Parker, O., & Budtova, T. (2014). Diffusion of 1-Ethyl-3-methylimidazolium Acetate in Glucose, Cellobiose, and Cellulose Solutions. *Biomacromolecules*, 15(2), 609–617. <https://doi.org/10.1021/bm401652c>
- Schaefer, L., Auchtung, T. A., Hermans, K. E., Whitehead, D., Borhan, B., & Britton, R. A. (2010). The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology*, 156(Pt 6), 1589–1599. <https://doi.org/10.1099/mic.0.035642-0>
- Spinler, J. K., Taweechotipatr, M., Rognerud, C. L., Ou, C. N., Tumwasorn, S., & Versalovic, J. (2008). Human-derived probiotic *Lactobacillus reuteri* demonstrate antimicrobial activities targeting diverse enteric bacterial pathogens. *Anaerobe*, 14(3), 166–171.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.02.001>
- Sun, M.-C., Hu, Z.-Y., Li, D.-D., Chen, Y.-X., Xi, J.-H., & Zhao, C.-H. (2022). Application of the reuterin system as food preservative or health-promoting agent: A critical review. *Foods*, 11(24), 4000.
<https://doi.org/10.3390/foods11244000>
- Talarico, T. L., Casas, I. A., Chung, T. C., & Dobrogosz, W. J. (1988). Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(12), 1854–1858. <https://doi.org/10.1128/aac.32.12.1854>
- Urrutia-Baca, V. H., Escamilla-García, E., de la Garza-Ramos, M. A., Tamez-Guerra, P., Gómez-Flores, R., & Urbina-Ríos, C. S. (2018). In vitro antimicrobial activity and downregulation of virulence gene expression on *Helicobacter pylori* by reuterin. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(2), 168–175.
<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9342-2>
- Zeng, M., Oh, J.-H., van Pijkeren, J.-P., & Pan, X. (2024). Selective utilization of gluco-oligosaccharides by lactobacilli: A mechanism study revealing the impact of glycosidic linkages and degree of polymerization on their utilization. *Journal of Food Science*, 89(1), 523–539.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16851>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
- Zhang, J., Yang, X., Hou, B., Wang, A., Li, Z., Wang, H., & Zhang, T. (2014). Comparison of cellobiose and glucose transformation to ethylene glycol. *Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis*, 35(11), 1811–1817. [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(14\)60151-0](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(14)60151-0)